

87-244392 B2C2

⑬  Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

⑪ Veröffentlichungsnummer.

0 235 085  
A1

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑲ Anmelde­nummer: 87810088.2

⑳ Anmeldetag: 16.02.87

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup> C 07 D 493/22

A 01 N 43/90

/(C07D493/22, C13:00, 311:00,  
311 C13:00)

NEU 13-BETA-ZUCKERDERIVATE VON MILBEMYCINEN, DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG GEGEN EKTO- UND ENDOPARASITEN AM NUTZTIER ODER AN DER NUTZPFLANZE  
INSECTICIDES, ACARICIDES AND ANTHELMINTICS

B  
C

③① Priorität: 20.02.86 CH 674/86

④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
02.09.87 Patentblatt 87/36

④④ Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑦① Anmelder: CIBA-GEIGY AG  
Klybeckstrasse 141  
CH-4002 Basel(CH)

⑦② Erfinder: Frei, Bruno, Dr.  
Bündtenstrasse 16  
CH-4410 Liestal(CH)

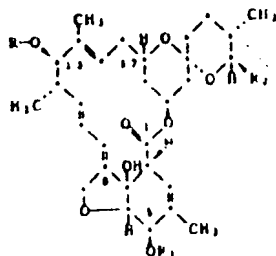
⑦③ Erfinder: Moreyala, Hari Babu, Dr.  
NCL-Colony, C-5  
Pashan Pune-411008(IN)

2805

1357

④⑤ 13-Beta-Zuckerderivate von Milbemycinen, deren Herstellung und Verwendung gegen Ekto- und Endoparasiten am Nutztier oder an der Nutzpflanze.

④⑥ Es werden parasitizid und insektizid hochaktive Wirkstoffe der Formel I



(1)

worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet,  
R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek-Butyl steht, und  
R für einen Zuckerrest steht, beschrieben, sowie ihre Herstellung ausgehend von den entsprechend substituierten 13β-Hydroxymilbemycinen.

EP 0 235 085 A1

87244392

0235085

- 1 -

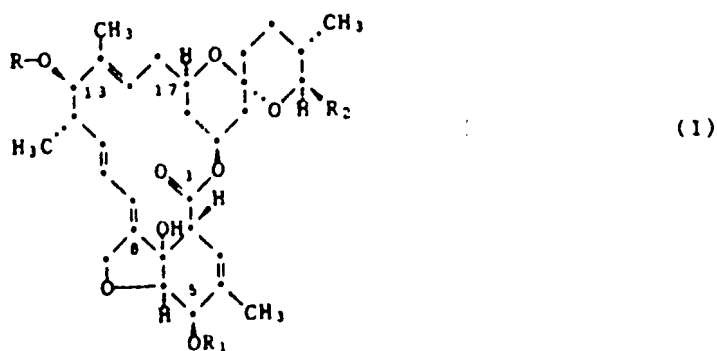
CIBA-GEIGY AG  
Basel (Schweiz)

5-15762/-

13B-Zuckerderivate von Milbemycinen, deren Herstellung und Verwendung gegen Ekto- und Endoparasiten am Nutztier oder an der Nutzpflanze

Die vorliegende Erfindung betrifft neue 13B-Zuckerderivate von Milbemycinen der nachstehenden Formel I, deren Herstellung sowie deren Verwendung zur Bekämpfung von Schädlingen wie Ekto- und Endoparasiten an Tieren oder Pflanzen.

Bei den erfindungsgemässen Verbindungen handelt es sich um 13B-Zuckerderivate von Milbemycinen mit der allgemeinen Formel I



worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet;  
R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und  
R für einen Zuckerrest steht.

1358

2808

87244392

0235085

- 2 -

Unter dem Begriff Alkyl selbst oder als Bestandteil eines anderen Substituenten sind je nach Zahl der angegebenen Kohlenstoffatome beispielsweise folgenden Gruppen zu verstehen: Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl, Decyl, usw. sowie die Isomeren, wie z.B. Isopropyl, Isobutyl, tert.-Butyl, Isopentyl usw.. Unter OH-Schutzgruppen für den Substituenten  $R_1$  sollen hier und im folgenden die in der organischen Chemie üblichen Schutzfunktionen verstanden werden. Dabei handelt es sich insbesondere um Acyl- und Silylgruppen. Geeignete Acylgruppen sind beispielsweise die Reste  $R_1-C(O)-$ , worin  $R_1$  die unter Formel I angegebenen Bedeutungen hat und vorzugsweise für  $C_1-C_6$ -Alkyl,  $C_1-C_6$ -Haloalkyl oder unsubstituiertes oder durch Halogen,  $C_1-C_3$ -Alkyl,  $CF_3$  oder Nitro substituiertes Phenyl steht. Als geeignete Silylgruppen für  $R_1$  kommt der Rest  $-Si(R_5)(R_6)(R_7)$  in Frage, wobei  $R_5$ ,  $R_6$  und  $R_7$  vorzugsweise unabhängig voneinander für  $C_1-C_4$ -Alkyl, Benzyl oder Phenyl stehen und beispielsweise eine der Gruppen Trimethylsilyl, tris(tert.-Butyl)silyl, Diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(Isopropyl)methylsilyl, trimethyl-(2,3-dimethyl-2-butyl)silyl, Triphenylsilyl usw. und insbesondere tert.-Butyl-dimethylsilyl bildet. Die 5-OH-Gruppe kann auch als Benzylether oder Methoxyethoxymethylether vorliegen.

Verbindungen, worin  $R_2$  sek.-Butyl darstellt, sollen hier und im folgenden gleichfalls zu den Milbemycin-Derivaten gerechnet werden, obwohl sie nach der üblichen Systematik nicht darunter fallen, sondern gemäß US-PS 4.173.571 von Avermectin-Derivaten abgeleitet sind.

Verbindungen der Formel I, worin  $R_1$  eine Schutzgruppe darstellt, lassen sich durch einfache, z.B. hydrolytische Abspaltung der Schutzfunktion in die hochaktiven freien 5-Hydroxy-Derivate ( $R_1=H$ ) überführen und haben somit Zwischenprodukte-Charakter. Im übrigen wird der biologische Wert dieser Verbindungen durch die Schutzgruppe im Prinzip nicht gemindert.

1350

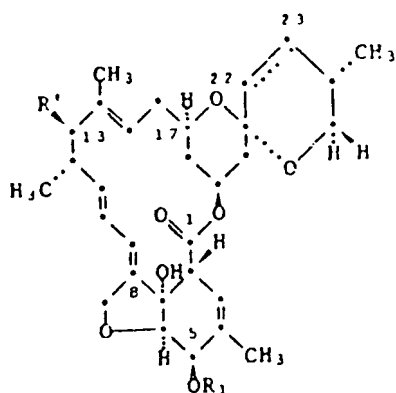
2807

872443

0235085

- 3 -

Die Substituenten  $R'$  in 13-Position bedeuten in natürlich vorkommenden Milbemycinen ( $R_1 = H$ ;  $R_2 = CH_3, C_2H_5$  oder  $isoC_3H_7$ ) stets Wasserstoff.



(Konstitution von natürlichen Milbemycinen)

Bei Avermectinen dagegen steht in der 13-Position als  $R'$  ein  $\alpha$ -L-Oleandrosyl- $\alpha$ -L-oleandrose-Rest, der über Sauerstoff in  $\alpha$ -Konfiguration mit dem Makrolid-Molekül verknüpft ist. Avermectine unterscheiden sich strukturell ausserdem durch eine 23-OH-Gruppe oder  $\Delta^{22,23}$ -Doppelbindung und in der Regel durch einen Substituenten  $R_2 = sek.C_4H_9$  von den Milbemycinen. Durch Hydrolyse des Zucker-Restes der Avermectine gelangt man leicht zu den entsprechenden Avermectin-aglykonen, die eine allylische 13 $\alpha$ -Hydroxy-Gruppe besitzen. Bei den Avermectin-derivaten der vorliegenden Anmeldung liegt die  $\Delta^{22,23}$ -Doppelbindung stets in hydrierter Form vor.

Formel I repräsentiert somit Milbemycin-Abkömmlinge, die in 5-Position entweder eine freie OH-Gruppe, eine Silyl- oder Acylgruppe aufweisen und in 13 $\alpha$ -Position ein über ein Sauerstoff gebundenes Mono-, Di- oder Triaccharid als Substituenten tragen.

Unter einem Zuckerrest soll im Rahmen der vorliegenden Erfindung vorzugsweise die Kohlenhydratgruppe  $-A-(B)_m-(C)_n$  verstanden werden wobei A einen in 1'-Stellung verknüpften Kohlenhydratriest bedeutet, der glykosidisch an ein zweites oder drittes Kohlenhydratmolekül B und/oder C beliebiger Struktur geknüpft sein kann, wobei m und n unabhängig voneinander 0 oder 1 bedeuten.

1380

2808

87244392

Als Zuckerreste kommen somit in der Furanosyl- bzw. in der Pyranosylform vorliegend z.B. folgende Reste in Frage:

Monosaccharide: Glucose, Fructose, Altrose, Mannose, Sorbose, Gulose, Idose, Allose, Galactose, Ribose, Rhamnose, Arabinose, Xylose, Lyxose, Erythrose, Threose, Thamnose, Oleandrose, Altrose, Talose sowie ihre entsprechenden Derivate wie Methylglukose, Trimethylglukose und Tetraacetylglukose als ein- oder mehrfach O-acylierte bzw. O-alkylierte Zucker, ferner Deoxy-Zucker wie 2-Deoxy-glukose, 2-Deoxy-galactose, 2-Deoxy-Rhamnose und 2-Deoxy-ribose sowie ihre entsprechenden Derivate;

Disaccharide: Lactose, Maltose, Cellobiose, Melibiose, Gentiobiose, Oleandryl-oleandrose und beliebige Kombinationen von zwei der oben aufgeführten Zuckerbausteine sowie ihre entsprechenden Derivate.

Weiterhin werden zu den für Formel I genannten Kohlehydraten Saccharide gerechnet, die zusätzlich einen Aminorest, einen Thiolrest oder einen aus zwei benachbarten OH-Gruppen und einem Aldehyd bzw. einem Keton gebildeten cyclischen Acetalrest enthalten.

Die Verknüpfung eines Saccharids mit dem Sauerstoffatom in 138-Position der Verbindungen der Struktur I wie auch die Verknüpfung zwischen den Zuckerresten eines Di- oder Trisaccharids kann als  $\alpha$ -oder  $\beta$ -Anomeres erfolgen. Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf beide Bindungsarten.

Zur Bildung eines cyclischen Acetals an einem Zuckermolekül eignen sich einfache Aldehyde wie Acetaldehyd, Propionaldehyd, Butyraldehyd, Benzaldehyd oder Ketone wie Acetophenon, Cyclopentanon, Cyclohexanon, Cycloheptanon, Fluorenon, Methylethylketon, vor allem aber Aceton unter Bildung entsprechender Acetonide.

Folgende Untergruppen von Verbindungen der Formel I sind auf Grund ihrer ausgeprägten parasitiziden und insektiziden Wirkung besonders bevorzugt:

Gruppe Ia: Verbindungen der Formel I, worin R für eine Kohlenhydratgruppe  $-A-(B)_m-(C)_n$  steht, wobei A einen in 1'-Stellung verknüpften Kohlenhydratrest repräsentiert, der glykosidisch an ein zweites oder drittes Kohlenhydratmolekül B und/oder C beliebiger Struktur geknüpft sein kann, wobei m und n unabhängig 0 oder 1 bedeuten;  $R_1$  Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl, oder sek.-Butyl steht.

Gruppe Ib: Diejenigen Verbindungen innerhalb der Untergruppe Ia, worin  $R_1$  Wasserstoff bedeutet.

Gruppe Ic: Verbindungen der Formel I innerhalb der Untergruppe Ia, worin  $R_1$  die Gruppe  $-Si(R_5)(R_6)(R_7)$  repräsentiert, wobei  $R_5$ ,  $R_6$  und  $R_7$  unabhängig voneinander für  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl, Benzyl oder Phenyl stehen; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

Gruppe Id: Diejenigen Verbindungen innerhalb der Untergruppe Ic, worin  $R_1$  Trimethylsilyl, tris(tert.-Butyl)-silyl, Diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(Isopropyl)methylsilyl, Triphenylsilyl, Dimethyl-(2,3-dimethyl-2-butyl)silyl oder tert.-Butyl-dimethylsilyl bedeutet; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

Gruppe Ie: Diejenigen Verbindungen im Umfang der Untergruppe Ia, worin  $R_1$  eine Acylgruppe bedeutet.

Gruppe If: Diejenigen Verbindungen im Umfang der Untergruppe Ia, worin  $R_1$  eine Acetyl oder Benzoylgruppe bedeutet.

Gruppe Ig: Verbindungen der Formel I, worin R für den Zuckerrest der Formel U

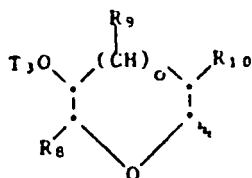
2810

1362

87244392

0235085

- 6 -



(U)

unter Einschluss seiner Stellungen-Isomeren repräsentiert, wobei o für die Zahl 0 oder 1 steht; R<sub>8</sub> Wasserstoff, Methyl oder -CH<sub>2</sub>-O-T<sub>1</sub> bedeutet; R<sub>9</sub> und R<sub>10</sub> unabhängig voneinander für Wasserstoff oder OT<sub>2</sub> steht, oder an Stelle von R<sub>9</sub> und R<sub>10</sub> eine Doppelbindung vorliegt; T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> und T<sub>3</sub> unabhängig voneinander Wasserstoff, Methyl, Benzyl, eine unsubstituierte oder halogensubstituierte C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-aliphatische Acylgruppe, eine Benzoylgruppe, oder eine C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonylgruppe bedeuten, oder wobei T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> zusammen mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom eines aliphatischen oder aromatischen Aldehyds oder Ketons mit maximal 13 Kohlenstoffatomen ein cyclisches Acetal bilden; R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet; und R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

Gruppe Ih: Verbindungen der Formel I aus der Untergruppe Ig wobei T<sub>3</sub> für einen Zuckerrest der Formel U steht und R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> die oben angegebene Bedeutung haben.

Gruppe Ii: Verbindungen der Formel I aus der Untergruppe Ig, worin U für ein Monosaccharid steht.

Gruppe Ik: Verbindungen der Formel I aus der Untergruppe li worin U ein 2-Deoxy-Zuckerrest bedeutet.

Gruppe Il: Verbindungen der Formel I aus der Untergruppe Ig, worin U für ein Disaccharid steht.

Besonders bevorzugte Einzelsubstanzen der Formel I sind z.B.:

13β-O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-milbemycin D;

2811

8724432

1363

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-  
milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin D;

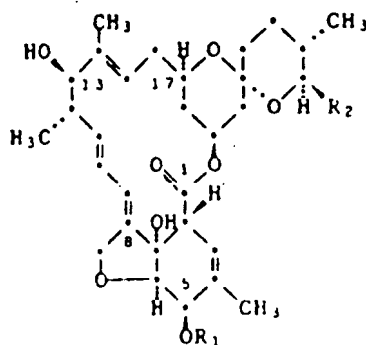
13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(4''-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-  
milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(3'',4''-Di-O-methyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-  
L-rhamnosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>;

Die vorliegende Erfindung betrifft nicht nur die Verbindungen der  
Formel 1, sondern gleichermassen das Verfahren zu deren Herstellung.  
Es wurde nämlich überraschend gefunden, dass man durch Reaktion  
einer Verbindung der Formel 1a



(1a)

1364

worin



$R_1$  eine Schutzgruppe bedeutet; und  
 $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht  
 mit einem reaktionsfähigen Zuckerderivat zu den Verbindungen der  
 Formel I gelangt.

Das erfindungsgemässe Verfahren bildet somit die Möglichkeit, in der  
 13 $\beta$ -Position von Milbemycin- oder 13-Deoxy-22,22-dihydro-avermectin-  
 B1-aglykon-derivaten gezielt den unter Formel I definierten über ein  
 Sauerstoffatom gebundenen Zuckerrest R einzuführen und damit zu  
 hochwirksamen Parasitiziden und Insektiziden zu gelangen, die  
 überdies für weitere Derivatisierungen eingesetzt werden können.

Die Herstellung von Verbindungen der Formel I, die an das Sauer-  
 stoffatom in der 5-Position eine Schutzgruppe tragen, stellt eine  
 Derivatisierung der reaktionsfähigen 13 $\beta$ -Hydroxygruppe von 13 $\beta$ -  
 Hydroxy-Milbemycin mit einem geeigneten Kohlenhydratmolekül dar und  
 wird nach einem der in der Zuckerchemie verwendeten Verknüpfungs-  
 methoden, z.B. nach der Koenigs-Knorr-Synthese, dem Ag-Triflat-  
 Prozess, nach dem sogenannten Orthoester-Verfahren, der Phenylthio-  
 Synthese oder der 2-Pyridylthio-Synthese durchgeführt.

A) Nach der Koenigs-Knorr-Synthese oder dem Silber-Triflat-Prozess  
 lässt sich ein 13 $\beta$ -Hydroxy-Milbemycin der Formel ( $R_1$  = eine Silyl-  
 bzw. Acylschutzgruppe) in Gegenwart eines Silbersalzes oder Queck-  
 silber-Salzes als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden  
 Zuckerrest, dem Kohlehydrat A oder  $A-(B)_m-(C)_n$ , worin A, B, C, k und  
 m die für Formel I gegebene Bedeutung haben und worin sämtliche  
 OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der durch Chlor oder Brom  
 substituierten 1-OH-Gruppe im Temperaturbereich von -30°C bis +60°C,  
 bevorzugt -5°C bis +30°C unter Licht-Ausschluss, gewinnen. Das  
 gewünschte Kohlehydrat kann, sofern in 13 $\beta$ -Position ein Rest  
 $A-(B)_m-(C)_n$  addiert werden soll, schrittweise an ein 13 $\beta$ -Hydroxy-  
 Milbemycin gebunden werden, oder es kann vorzugsweise als bereits  
 fertig vorgebildetes Gykosid in einem Reaktionsschritt mit dem  
 13 $\beta$ -Hydroxy-Milbemycin verknüpft werden.

Als Silbersalz lässt sich frisch gefälltes  $\text{Ag}_2\text{O}$  verwenden, vorzugsweise jedoch  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  oder  $\text{CF}_3\text{-COOAg}$ . Besonders bevorzugt ist Silber-Trifluormethansulfonat ( $\text{Ag-Triflat} = \text{CF}_3\text{-SO}_3\text{Ag}$ ), in dessen Gegenwart die Glykosidierung bereits bei Minustemperaturen schnell abläuft. Zum Aktivieren der  $13\beta\text{-OH}$ -Gruppe des  $13\beta\text{-Hydroxy-Milbemycins}$  und zum Neutralisieren der gegebenenfalls entstehenden  $\text{CF}_3\text{-SO}_3\text{H}$  bzw.  $\text{CF}_3\text{-COOH}$  setzt man zweckmässig ein tertiäres Amin (Triethylamin, Diisopropylethylamin, Diazabicycloundecan u.a.) der Reaktionslösung zu.

Sofern gewünscht wird, können die Schutzgruppen am Zuckerrest durch milde Verseifung (z.B.  $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ ) anschliessend abgespalten werden. Als Lösungsmittel kommen bei diesem Teilschritt insbesondere wasserfreie aprotische Vertreter wie Dichlormethan, Acetonitril, Benzol, Toluol, Nitromethan, Dioxan, THF, Ethylenglykoldimethylether in Frage; Diethylether ist besonders geeignet.

Das geschützte 1-Chlor- oder 1-Brom-Kohlehydrat wird in äquimolarer Menge zum  $13\beta\text{-Hydroxy-Milbemycin}$  (Ia) eingesetzt, vorzugsweise jedoch in einem 1,5- bis 3-fachen Ueberschuss. Die Reaktionsdauer beträgt, um eine befriedigende Ausbeute zu erzielen, 5 bis 72 Stunden.

Anstatt des Silbersalzes lässt sich auch Hg-Cyanid oder eine Kombination von  $\text{HgO}$  mit wahlweise Hg-Chlorid oder Hg-Bromid verwenden (Helferich-Synthese).

Nach einer weiteren Variante lässt sich die Reaktivität in der  $1'$ -Stellung des glykosidisch zu verknüpfenden Kohlehydrats, dessen weitere OH-Gruppen geschützt sein müssen, durch anfängliche Umwandlung in das  $1'$ -Phenylthio-Derivat und anschliessende Reaktion mit DAST (= Diethylaminoschwefeltrifluorid) in absolut trockenem Dichlormethan (Molekularsieb) bei  $+5^\circ\text{C}$  bis  $-30^\circ\text{C}$  zum  $1'$ -Fluorderivat erhöhen. Reaktiver als das entsprechende, bei der Koenigs-Knorr-Synthese eingesetzte  $1'$ -Chlor- oder  $1'$ -Brom-Derivat lässt sich das so gewonnene  $1'$ -Fluor-Derivat des Kohlehydrat-Reaktanden mit

13 $\beta$ -Hydroxy-Milbemycin (Ia) in Gegenwart von SnCl<sub>2</sub> und AgClO<sub>4</sub> in einem trockenen aprotischen Lösungsmittel wie Diethylether unter Schutzgas wie Argon bei +5°C bis -30°C verknüpfen.  
(J. Am. Soc. 1984, 106, 4189-4192).

B) Eine bessere Reaktion wird erzielt, wenn das in 1'-Stellung zu aktivierende, gleichermassen geschützte Kohlehydrat mit 2,2'-Dithiopyridin in trockenem Dichlormethan bei ca. 0°C und unter Argon-Atmosphäre in das 1'-S-(2-Pyridyl)-Kohlehydrat überführt wird, das mit der freien 13 $\beta$ -OH-Gruppe des 13 $\beta$ -Hydroxy-Milbemycins der Formel Ia in Gegenwart von Pb(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> oder AgClO<sub>4</sub> als Kondensationsmittel bei -30° bis Raumtemperatur in Tetrahydrofuran (THF) als Lösungsmittel leicht unter Bildung der glykosidischen Bindung reagiert. (J. Org. Chem. 1983, 48, 3489-3493).

C) Glykosidische Verknüpfungen lassen sich auch in Gegenwart von Lewis-Säuren erzielen, wie AlCl<sub>3</sub>, AlBr<sub>3</sub>, SnCl<sub>4</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub> (sowie vor allem das Etherat), wozu insbesondere acetylierte Zucker sehr geeignet sind. (Chimia 21, 1967, S. 537-538).

D) Nach der sogenannten Orthoester-Methode lassen sich glykosidische Bindungen auch durch Reaktion von 13 $\beta$ -Hydroxy-Milbemycin der Formel Ia mit dem zu verknüpfenden OH-geschützten Zucker in Gegenwart des Orthoesters eines niederen Alkohols erzielen, dessen eine alkoholische Komponente der Zucker-Reaktand ist.

E) Zur Herstellung von 13 $\beta$ -O-Glykosid-milbemycin-Derivaten, worin der Zuckerrest ein 2,3-Dideoxy-2,3-didehydro-glykopyranosid ist, kann auch das 5-O-geschützte 13 $\beta$ -Hydroxy-milbemycin der Formel Ia mit acetylierten Glykalen in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure bei Raumtemperatur umgesetzt werden (Ferrier Reaktion).

Das Verfahren zur Herstellung von 13 $\beta$ -O-Glykosid-Milbemycin-Derivaten der Formel, worin R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, A, B, C, m und n die unter Formel I angegebenen Bedeutungen haben, ist gekennzeichnet im engeren Sinne durch Reaktion von 5-O-geschütztem 13 $\beta$ -Hydroxi-Milbemycin der Formel Ia

- a) in Gegenwart eines Silbersalzes oder Quecksilber-Salzes als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden Kohlenhydrat A oder A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub>, worin A, B, C, m und n die für Formel I gegebene Bedeutung haben und worin sämtliche OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der in 1-Stellung durch Chlor oder Brom substituier-ten anomeren 1-OH-Gruppe unter Licht-Ausschluss im Temperaturbereich von -30°C bis +60°C, bevorzugt -5°C bis +30°C; oder
- b) in Gegenwart von SnCl<sub>2</sub> und AgClO<sub>4</sub> als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden Kohlenhydrat A oder A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub>, worin sämtliche OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der in 1-Stellung durch Fluor substituierten anomeren 1-OH-Gruppe unter Lichtausschluss bei +5°C bis -30°C; oder
- c) in Gegenwart von Pb(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> oder AgClO<sub>4</sub> als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden Kohlenhydrat A oder A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub>, worin sämtliche OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der in 1-Stellung durch 5-(2-Pyridyl) substituierten anomeren OH-Gruppe bei -30° bis Raumtemperatur in Tetrahydrofuran (THF) als Lösungsmittel; und sofern gewünscht, milder Verseifung der Hydroxyl-Schutzgruppen mit 25 % Ammoniak in Methanol bei 0° bis Raumtemperatur bevorzugt bei 0-5°. Nach erfolgter Glykosidierungs-Reaktion wird die Silyl-Schutzgruppe zweckmässigerweise durch Behandlung der Verbindung der Formel I mit einer verdünnten Säure wie z.B. mit 1 proz. p-Toluolsulfonsäure in Methanol mit einer wässrigen HF-Lösung in Acetonitril im Temperaturbereich -30° bis 0°C, bevorzugt bei -10° oder mit Pyridiniumfluorid in Pyridin wieder abgespalten.



Die Verbindungen I besitzen auch nachhaltige Wirksamkeit bei pflanzenparasitären Milben und Insekten. Bei Spinnmilben der Ordnung Acarina sind sie wirksam gegen Eier, Nymphen und Adulte von Tetranychidae (Tetranychus spp. und Panonychus spp.).

Hohe Aktivität besitzen sie bei den saugenden Insekten der Ordnung Homoptera, insbesondere gegen Schädlinge der Familien Aphididae, Delphacidae, Cicadellidae, Psyllidae, Loccidae, Diaspididae und Eriophyidae (z.B. die Rostmilbe auf Citrusfrüchten); der Ordnungen Hemiptera; Heteroptera und Thysanoptera; sowie bei den pflanzenfressenden Insekten der Ordnungen Lepidoptera; Coleoptera; Diptera und Orthoptera.

Sie sind ebenfalls als Bodeninsektizid gegen Schädlinge im Erdboden geeignet.

Die Verbindungen der Formel I sind daher gegen alle Entwicklungsstadien saugender und fressender Insekten an Kulturen wie Getreide, Baumwolle, Reis, Mais, Soja, Kartoffeln, Gemüse, Früchten, Tabak, Hopfen, Citrus, Avocados und anderen wirksam.

Die Verbindungen der Formel I sind auch wirksam gegen Pflanzen-Nematoden der Arten Meloidogyne, Heterodera, Pratylenchus, Ditylenchus, Radopholus, Rizoglyphus und andere.

Besonders aber sind die Verbindungen gegen Helminthen wirksam, unter denen die endoparasitären Nematoden die Ursache schwerer Erkrankungen an Säugetieren und Geflügel sein können, z.B. an Schafen, Schweinen, Ziegen, Rindern, Pferden, Eseln, Hunden, Katzen, Meerschweinchen, Ziervögeln. Typische Nematoden dieser Indikation sind: Haemonchus, Trichostrongylus, Ostertagia, Nematodirus, Cooperia, Ascaris, Bunostomum, Oesophagostomum, Charbertia, Trichuris, Strongylus, Trichonema, Dictyocaulus, Capillaria, Heterakis, Toxocara, Ascaridia, Oxyuris, Ancylostoma, Uncinaria, Toxascaris und

0235085

- 14 -

Parascaris. Der besondere Vorteil der Verbindungen der Formel I ist ihre Wirksamkeit gegen solche Parasiten, die gegen Wirkstoffe auf Benzimidazol-Basis resistent sind.

Gewisse Spezies der Arten Nematodirus, Cooperia und Oesophagostomum greifen den Intestinaltrakt des Wirtstiers an, während andere der Arten Haemonchus und Ostertagia im Magen und solche der Art Dictyocaulus im Lungengewebe parasitieren. Parasiten der Familien Filariidae und Setariidae finden sich im internen Zellgewebe und den Organen, z.B. dem Herzen, den Blutgefäßen, den Lymphgefäßen und dem subcutanen Gewebe. Hier ist vor allem der Herzwurm des Hundes, Dirofilaria immitis, zu nennen. Die Verbindungen der Formel I sind gegen diese Parasiten hoch wirksam.

Sie sind ferner zur Bekämpfung von humanpathogenen Parasiten geeignet, unter denen als typische, im Verdauungstrakt vorkommende Vertreter solche der Arten Ancylostoma, Necator, Ascaris, Strongyloides, Trichinella, Capillaria, Trichuris und Enterobius zu nennen sind. Wirksam sind die Verbindungen vorliegender Erfindung auch gegen Parasiten der Arten Wuchereria, Brugia, Onchocerca und Loa aus der Familie der Filariidae, die im Blut, im Gewebe und verschiedenen Organen vorkommen, ferner gegen Dracunculus und Parasiten der Arten Strongyloides und Trichinella, die speziell den Gastro-Intestinalkanal infizieren.

Die Verbindungen der Formel I werden in unveränderter Form oder vorzugsweise zusammen mit den in der Formulierungstechnik üblichen Hilfsmitteln eingesetzt und werden daher z.B. zu Emulsionskonzentraten, direkt versprühbaren oder verdünnbaren Lösungen, verdünnten Emulsionen, Spritzpulvern, löslichen Pulvern, Stäubemitteln, Granulaten, auch Verkapselungen in z.B. polymeren Stoffen in bekannter Weise verarbeitet. Die Anwendungsverfahren wie Versprühen, Vernebeln, Verstäuben, Verstreuen oder Giessen werden gleich wie die Art der Mittel den angestrebten Zielen und den gegebenen Verhältnissen entsprechend gewählt.

1371

Die Verbindungen der Formel I werden bei Warmblütern in Aufwandmengen von 0,01 bis 10 mg/kg Körpergewicht angewendet, über geschlossenen Kultur-Anbauflächen, in Pferchen, Stallungen oder sonstigen Räumen in Mengen von 10 g bis 1000 g pro Hektar.

Die Formulierungen, d.h. die den Wirkstoff der Formel I enthaltenden Mittel, Zubereitungen oder Zusammensetzungen werden in bekannter Weise hergestellt, z.B. durch inniges Vermischen und/oder Mahlen der Wirkstoffe mit Streckmitteln, wie z.B. mit Lösungsmitteln, festen Trägerstoffen, und gegebenenfalls oberflächenaktiven Verbindungen (Tensiden).

Als Lösungsmittel können in Frage kommen: Aromatische Kohlenwasserstoffe, bevorzugt die Fraktionen  $C_8$  bis  $C_{12}$ , wie z.B. Xylolgemische oder substituierte Naphthaline, Phthalsäureester wie Dibutyl- oder Dioctylphthalat, aliphatische Kohlenwasserstoffe wie Cyclohexan oder Paraffine, Alkohole und Glykole sowie deren Ether und Ester, wie Ethanol, Ethylenglykol, Ethylenglykolmonomethyl- oder -ethylether, Ketone wie Cyclohexanon, stark polare Lösungsmittel wie N-Methyl-2-pyrrolidon, Dimethylsulfoxid oder Dimethylformamid, sowie gegebenenfalls epoxidierte Pflanzenöle, wie epoxidiertes Kokosnussöl oder Sojaöl; oder Wasser.

Als feste Trägerstoffe, z.B. für Stäubemittel und dispergierbare Pulver, werden in der Regel natürliche Gesteinsmehle verwendet, wie Calcit, Talkum, Kaolin, Montmorillonit oder Attapulgit. Zur Verbesserung der physikalischen Eigenschaften können auch hochdisperse Kieselsäure oder hochdisperse saugfähige Polymerisate zugesetzt werden. Als gekörnte, adsorptive Granulatträger kommen poröse Typen wie z.B. Bimsstein, Ziegelbruch, Sepiolit oder Bentonit, als nicht adsorptive Trägermaterialien z.B. Calcit oder Sand in Frage. Darüber hinaus kann eine Vielzahl von vorgranulierten Materialien anorganischer oder organischer Natur wie insbesondere Dolomit oder zerkleinerte Pflanzenrückstände verwendet werden.



Als oberflächenaktive Verbindungen kommen je nach der Art des zu formulierenden Wirkstoffes nichtionogene, kation-und/oder anion-aktive Tenside mit guten Emulgier-, Dispergier- und Netzeigenschaften in Betracht. Unter Tensiden sind auch Tensidgemische zu verstehen.

Geeignete anionische Tenside können sowohl sog. wasserlösliche Seifen als auch wasserlösliche synthetische oberflächenaktive Verbindungen sein.

Als Seifen seien die Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren ( $C_{10}-C_{22}$ ), wie z.B. die Na- oder K-Salze der Oel- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fettsäuregemischen, die z.B. aus Kokosnuss- oder Talgöl gewonnen werden können, genannt. Ferner sind auch die Fettsäure-methyl-aurinsalze zu erwähnen.

Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tenside verwendet, insbesondere Fettsulfonate, Fettsulfate, sulfonierte Benzimidazol-derivate oder Alkylarylsulfonate.

Die Fettsulfonate oder -sulfate liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze vor und weisen einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Acylresten einschließt, z.B. das Na- oder Ca-Salz der Ligninsulfonsäure, des Dodecylschwefelsäureesters oder eines aus natürlichen Fettsäuren hergestellten Fettalkoholsulfatgemisches. Hierher gehören auch die Salze der Schwefelsäureester und Sulfonsäuren von Fettalkohol-Aethylenoxid-Addukten. Die sulfonierten Benzimidazol-derivate enthalten vorzugsweise 2 Sulfonsäuregruppen und einen Fettsäurerest mit 8 bis 22 C-Atomen. Alkylarylsulfonate sind z.B. die Na-, Ca- oder Triäthanolaminsalze der Dodecylbenzolsulfonsäure, der Dibutyl-naphthalinsulfonsäure oder eines Naphthalinsulfonsäure-Formaldehydkondensationsproduktes.

Ferner kommen auch entsprechende Phosphate wie z.B. Salze des Phosphorsäureesters eines p-Nonylphenol-(4-14)-Aethylenoxid-Adduktes oder Phospholipide in Frage.

Die in der Formulierungstechnik gebräuchlichen Tenside sind u.a. in folgender Publikation beschrieben:

"Mc Cutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual"

MC Publishing Corp., Ridgewood, New Jersey, 1952.

Die pestiziden Zubereitungen enthalten in der Regel 0,01 bis 95 %, insbesondere 0,1 bis 80 %, Wirkstoff der Formel I, 5 bis 99,99 % eines festen oder flüssigen Zusatzstoffes und 0 bis 25 %, insbesondere 0,1 bis 25 %, eines Tensides.

Während als Handelsware eher konzentrierte Mittel bevorzugt werden, verwendet der Endverbraucher in der Regel verdünnte Mittel mit 1-10'000 ppm Wirkstoffgehalt.

Ein weiterer Gegenstand vorliegender Erfindung betrifft daher Schädlingsbekämpfungsmittel, die neben üblichen Trägerstoffen und/oder Verteilungsmitteln als mindestens einen Wirkstoff eine Verbindung der Formel I enthalten.

Die Mittel können auch weitere Zusätze wie Stabilisatoren, Entschäumer, Viskositätsregulatoren, Bindemittel, Haftmittel sowie Dünger oder andere Wirkstoffe zur Erzielung spezieller Effekte enthalten.

1374

2822

87244392

HerstellungsbeispieleHerstellung von Ausgangs- und ZwischenproduktenBeispiel A1: Herstellung von 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-138-hydroxy-milbemycin D und von 138-Hydroxy-milbemycin D (Formel Ia)

Eine Lösung bestehend aus 286 mg (0,41 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-15-hydroxy- $\Delta^{13,14}$ -milbemycin D und 209 mg (0,56 mmol) Pyridiniumdichromat (PDC) in 3 ml Dimethylformamid (DMF) wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wird 1 ml Isopropanol zugegeben, 5 min weitergerührt und dann mit 50 ml Ether verdünnt. Nach weiteren 10 min wird das Gemisch durch Kieselgel filtriert und eingeeengt. Bei der Chromatographie des Rohproduktes an 20 g Kieselgel (Ether/Hexan 1:2) werden 165 mg (57 %) 5-O-t-Butyldimethylsilyl-138-hydroxy-Milbemycin D erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

1,59 ppm (br. s) ( $\text{C}_{14}\text{CH}_3$ )

3,70 ppm (d;  $J = 10 \text{ Hz}$ ) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

105 mg (0,153 mmol) der so gewonnenen Verbindung werden mit 1 ml einer 1 %igen Lösung von p-Toluolsulfonsäure in Methanol 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wird mit 20 ml Ether verdünnt, durch Kieselgel filtriert, eingeeengt, und der Rückstand wird an ca. 10 g Kieselgel chromatographiert (Aceton/Dichlormethan 1:4), wobei 73 mg (83 %) 138-Hydroxy-Milbemycin D erhalten werden.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

1,58 ppm (br. s) ( $\text{C}_{14}\text{CH}_3$ )

3,71 ppm (d;  $J = 10 \text{ Hz}$ ) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

Beispiel A2: Herstellung von 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-138-hydroxy-milbemycin A<sub>4</sub>

Eine Lösung bestehend aus 1,06 mg (1,59 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-15-hydroxy- $\Delta^{13,14}$ -milbemycin A<sub>4</sub> und 383 mg (1,02 mmol) Pyridiniumdichromat (PDC) in 5 ml Dimethylformamid (DMF) wird

30 min. bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wird 1 ml Isopropanol zugegeben, 5 min. weitergerührt und dann mit 50 ml Ether verdünnt. Nach weiteren 10 min. wird das Gemisch durch Kieselgel filtriert und eingeeengt. Nach chromatographischer Reinigung des Rohproduktes an 20 g Kieselgel (Ether/Hexan 1:2) werden 625 mg (59 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-Milbemycin A4 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

0,98 ppm (t;  $J = 7$  Hz) ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ )

1,95 ppm (br. s) ( $\text{C}_{14}\text{CH}_3$ )

3,69 ppm (d;  $J = 9$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

#### Herstellung von Endprodukten der Formel I:

Beispiel H1: Herstellung von 13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl) milbemycin D.

Zu einer Lösung von 200 mg (0.29 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D in 3 ml abs. THF wird unter Argon eine Lösung von 122 mg (0.38 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl)-3,4-di-O-acetyl-2-deoxy-L-thio-rhamnose in 2 ml abs. THF und bei 0° eine Lösung von 122 mg (217 mmol)  $\text{AgClO}_4$  in 1 ml abs. THF zugegeben. Das Gemisch wird 30 min. bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch bei -30° mit 2 ml Triethylamin versetzt, in Diethylether aufgenommen und filtriert. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/Dichlormethan 1:19) ergibt 50 mg (19 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(3,4-di-O-acetyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D und 80 mg (31 %) 5-O-tert.-Butyl-dimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-S-deoxy- $\beta$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D. Diese beiden Silylether werden während 4 Stunden bei -10° mit einer Lösung von 3 ml 1 % p-Toluolsulfonsäure (TsOH) in Methanol (MeOH) behandelt, wobei nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/Dichlormethan 1:9) 43 mg (100 %) 13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3,76 ppm (d,  $J = 10, 1$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

1376

2824

87244392

0235085

- 20 -

2,01, 2,03 ppm (2s) (2 CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)

5,3-5,4 ppm (m) C<sub>1</sub>'H)

und 50 mg (86 %)

13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy- $\beta$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

3,47 ppm (d, J = 10,0 Hz) (C<sub>1</sub>'H)

2,00, 2,04 ppm (2s) (2 CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)

4,90-4,94 ppm (m) C<sub>1</sub>'H).

Beispiel H2: Herstellung von 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D.

Zu einer Lösung von 100 mg (0.146 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D und 51 mg (0.238 mmol) Di-O-acetyl-L-rhamnal in 0.5 ml trockenem Dichlormethan werden bei Raumtemperatur 5 mg (0.029 mmol) p-Toluolsulfonsäure (TsOH) zugegeben. Das Gemisch wurde mit 1 ml Triethylamin versetzt, in Diethylether aufgenommen und filtriert. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/Dichlormethan 1:40) ergibt 79 mg (64 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D. Die Entfernung der Silyl-ether-Schutzgruppe erfolgt durch Behandlung mit einer Lösung von 1 % p-Toluolsulfonsäure in Methanol während 3 Std. bei -10°. Nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Essigsäureethylester 2:1) werden 45 mg (66 %) 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D (Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer; Verhältnis ca. 3:1) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

2,06 und 2,07 ppm (s) (CH<sub>3</sub>COO)

3,53 und 3,87 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>'H)

4,95-5,05 ppm (m) (C<sub>2</sub>'H und C<sub>3</sub>'H).

1377

2825

87244392

0235085

- 21 -

Beispiel H3: Herstellung von 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-  
milbemycin D.

Zu einer Lösung von 330 mg (0.48 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D in 7 ml abs. THF wird unter Argon eine Lösung von 185 mg (0.62 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl) 4-O-acetyl-L-thio-oleandrose in 2 ml abs. THF und bei -20 °C 27. mg (1.25 mmol)  $\text{AsClO}_4$  in 1 ml abs. THF zugegeben. Das Gemisch wird in 15 min. auf Raumtemperatur aufgewärmt und zur Aufarbeitung mit 1 ml Triethylamin versetzt, in Diethylether gelöst und filtriert. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Diethylether 1:1) und die HPLC-Trennung ebenfalls an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Diethylether 3:2; Druck: 30 bar) liefert 108 mg (26 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D und 150 mg (36 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\beta$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D. Diese beiden Silylether werden während 16 Std. bei -10° mit einer Lösung von 3 ml 1 % p-Toluolsulfonsäure in Methanol behandelt, wobei nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Essigsäure-ethylester 5:4) 90 mg (96 %) 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

2,09 ppm (s) ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )

3,34 ppm (s) ( $\text{CH}_3\text{O}$ )

4,47 ppm (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ ) ( $\text{C}_1\text{H}$ )

4,90-4.96 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ )

und 100 mg (77 %) 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl- $\beta$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS)

2,08 ppm (s) ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )

3,31 ppm (s) ( $\text{CH}_3\text{O}$ )

3,78 ppm (d,  $J = 10 \text{ Hz}$ ) ( $\text{C}_1\text{H}$ )

4,28-4,32 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ).

2826

1378

87244392

0235085

- 22 -

Beispiel H4: Herstellung von 13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D.

Zu einer Lösung von 330 mg (0,48 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D in 6 ml abs. THF wird unter Argon zu einer Lösung von 257 mg (0,673 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl)-3,4,6-tri-O-acetyl-D-thio-galactopyranose in 2 ml abs. THF und bei -20° 203 mg (1,34 mmol) AgClO<sub>4</sub> in 1 ml THF zugegeben. Das Gemisch wird in 15 min. auf Raumtemperatur aufgewärmt und zur Aufarbeitung mit 1 ml Triethylamin versetzt, in Diethylether gelöst und filtriert. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Diethylether 8:7) liefert 140 mg (30 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D.

Die Entfernung der Silylether-Schutzgruppe erfolgt durch Behandlung mit einer Lösung von 1 % p-Toluolsulfonsäure in Methanol während 16 Std. bei -10°. Nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Essigsäureethylester 1:1) werden 95 mg (77 %) 13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D (Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer; Verhältnis ca. 9:1) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS)

1,99, 2,02, 2,07 ppm (3s) (3 CH<sub>3</sub>COO)

3,61 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>H)

4,92-4,98 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H).

Beispiel H5: Herstellung von 13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D.

Analog zum Beispiel H4 werden aus 330 mg (0,481 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin D durch Reaktion mit 1-S-(2'-Pyridyl)-3,4,6-tri-O-acetyl-D-thio-glucopyranose nach der Entfernung der Silyletherschutzgruppe 203 mg (50 %) der Titelverbindung (Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer; Verhältnis ca. 3:1) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>; TMS):

2,01, 2,05, 2,09 ppm (3s) (3 CH<sub>3</sub>COO; α-Anomer)

2,02, 2,03, 2,07 ppm (3s) (3 CH<sub>3</sub>COO; β-Anomer)

3,46 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>H; β-Anomer)

3,60 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>H; α-Anomer)

4,50 ppm (d, J = 7 Hz) (C<sub>1</sub>'H; β-Anomer)

4,86-4,90 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H; α-Anomer).

Beispiel H6: Herstellung von 13β-O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin D.

Zu einer Lösung von 76 mg (0.11 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13β-hydroxy-milbemycin D und 89 mg (0.20 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl)-4-(4'-O-Acetyl-α-L-oleandrosyl)-L-thio-oleandrose in 2 ml abs. THF wird unter Argon bei -20° eine Lösung von 130 mg (0.60 mmol) AgClO<sub>4</sub> in 1 ml abs. THF zugegeben. Das Gemisch wird 30 min. bei -20° gerührt und dann unter Zugabe von 1 ml Triethylamin in Diethylether aufgearbeitet. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Diethylether 5:4) ergibt 18 mg (16 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13β-O-[4'-O-(4''-O-acetyl-α-L-oleandrosyl)-α-L-oleandrosyl]-milbemycin D und 15 mg (13 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13β-O-[4'-O-(4''-O-acetyl-α-L-oleandrosyl)-β-L-oleandrosyl]-milbemycin D sowie 40 mg (36 %) eines Gemisches dieser beiden Verbindungen. Zur Entfernung der Acetoxy- bzw. Silylether-Schutzgruppen, werden die beiden Verbindungen während 3 Tagen mit einer Lösung von 25 % Ammoniak in Methanol bei 4° und nachfolgend während 3 Std. mit 1 ml einer Lösung von 1 % p-Toluolsulfonsäure in MeOH behandelt, wobei nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton 5:1) 5,0 mg (33 %) 13β-O-[4'-O-(α-L-oleandrosyl)-α-L-oleandrosyl]-milbemycin D.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

3,35, 3,41 ppm (2s) (2 OCH<sub>3</sub>)

3,46 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>H)

4,88-4,92 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)

5,32-5,40 ppm (m) (C<sub>1</sub>''H)

und 5,2 mg (41 %)



13 $\beta$ -O-[4'-O-( $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\beta$ -L-oleandrosyl]-milbemycin D erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):  
 3,33, 3,38 ppm (2s) (2 OCH<sub>3</sub>)  
 3,79 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)  
 4,28-4,36 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)  
 5,34-5,42 ppm (m) (C<sub>1</sub>"H).

Beispiel H7: Herstellung von 13 $\beta$ -O-[4'-O-( $\alpha$ -L-Oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>.

Analog zu Beispiel H6 wird ausgehend von 270 mg (0,40 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin A<sub>4</sub> 37 mg (11 %) der Titelverbindung erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):  
 3,35, 3,41 ppm (2s) (2 OCH<sub>3</sub>)  
 3,45 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)  
 4,86-4,92 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)  
 5,32-5,40 ppm (m) (C<sub>1</sub>"H).

Beispiel H8: Herstellung von 13 $\beta$ -O-[4'-O-(4"-O-Acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-milbemycin A<sub>4</sub>.

Eine Lösung von 34 mg (0,034 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-[4'-O-(4"-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub> (Zwischenprodukt im Beispiel H7) in 2 ml abs. THF wird bei 0° mit 60  $\mu$ l (0,06 mmol) einer 1M Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid (Bu<sub>4</sub>NF) versetzt und 16 Std. bei 0° gerührt. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/Dichlormethan 3:17) ergibt 16 mg (53 %) 13 $\beta$ -O-[4'-O-(4"-O-Acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):  
 2,09 ppm (s) (CH<sub>3</sub>COO)  
 3,35, 3,36 ppm (2s) (2 CH<sub>3</sub>O)  
 3,46 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)

1381

4,86-4,94 ppm (m) ( $C_1'H$ )

5,34-5,40 ppm (m) ( $C_1''H$ ).

Beispiel H9: Herstellung von 13 $\beta$ -O-[4'-O-(3'',4''-Di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>

Zu einer Lösung von 200 mg (0,299 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin A<sub>4</sub> und 130 mg (0,359 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl)-4-(3',4'-Di-O-methyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2,3-dideoxy-L-thio-rhamnose in 5 ml abs. THF wird unter Argon bei -20° eine Lösung von 93 mg (0,43 mmol) AgClO<sub>4</sub> in 1 ml abs. THF gegeben. Das Gemisch wird 30 min. bei -20° gerührt und dann unter Zugabe von 1 ml Triethylamin in Diethylether aufgearbeitet. Die chromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Diethylether 2:1) ergibt 180 mg (65 %) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-[4'-O-(3'',4''-di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>. 68 mg (0,074 mmol) dieses Silyl ethers werden während 3,5 Std. bei -10° mit 1 ml einer Lösung von 1 % p-Toluolsulfonsäure in Methanol behandelt, wobei nach der chromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton 9:1) 57 mg (96 %) 13 $\beta$ -O-[4'-O-(3'',4''-Di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin A<sub>4</sub> (Gemisch von 1'- $\alpha$ - und 1'- $\beta$ -Anomer, Verhältnis ca. 2:1) anfallen.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

3,42, 3,44, 3,54, 3,55 ppm (4s) (OCH<sub>3</sub>)

3,80 ppm (d, J = 10 Hz) ( $C_{1,3}H$ )

4,28-4,36 ppm (m) ( $C_1'H$ ;  $\beta$ -Anomer)

4,74-4,80 ppm (m) ( $C_1'H$ ;  $\alpha$ -Anomer)

5,30-5,40 ppm (m) ( $C_1''H$ ).

1380

2830

87244392

0235085

- 20 -

Beispiel H10: Herstellung von 138-O-[4'-O-( $\alpha$ -L-Oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin D.

246 mg (0.358 mmol) 5-O-tert.-Butyldimethylsilyl-138-hydroxymilbemycin D werden mit 167 mg (0.406 mmol) 1-S-(2'-Pyridyl)-4-(4'-O-Acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-L-thio-2,3-dideoxy-rhamnose und 114 mg (0.527 mmol) AgClO<sub>4</sub> analog zum Beispiel H6 umgesetzt. Es werden 54 mg (18 %) der Titelverbindung erhalten (Gemisch von 1' $\alpha$ - und 1' $\beta$ -Anomer; Verhältnis ca. 1:1).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

3,38, 3,40 ppm (2s) (OCH<sub>3</sub>)

3,80 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>1</sub>H)

4,28-4,36 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H;  $\beta$ -Anomer)

4,76-4,80 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H;  $\alpha$ -Anomer)

5,30-5,40 ppm (m) (C<sub>1</sub>"H).

Analog zu den beschriebenen Arbeitsweisen lassen sich auch die nachfolgend genannten Vertreter der Formel I herstellen.

2831

1383

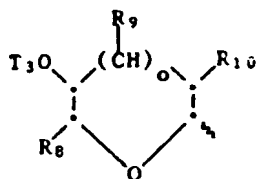
87244392

0235085

- 27 -

Tabelle 1

Typische Vertreter von Verbindungen der Formel I, worin R für die Gruppe



R<sub>1</sub> für Wasserstoff steht und R<sub>2</sub> die oben angegebene Bedeutung hat, sind: (Ac steht jeweils für Acetyl)

Verb. Nr.	R	R <sub>2</sub>	Herst. beisp.
1.1 1.2 1.3 1.4		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H1
1.5 1.6 1.7 1.8		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H2
1.9 1.10 1.11 1.12		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H3
1.13 1.14 1.15 1.16		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H4
1.17 1.18 1.19 1.20		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H5

0235085

- 28 -

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Verb. Nr.	R	R <sub>2</sub>	Herst. beisp.
1.21 1.22 1.23 1.24		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H7 P
1.25 1.26 1.27 1.28		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H8
1.29 1.30 1.31 1.32		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H9
1.33 1.34 1.35 1.36		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H10

Formulierungsbeispiele für den Wirkstoff der Formel I

(% = Gewichtsprozent)

Spritzpulver	a)	b)	c)
Wirkstoff aus den Tabellen	25 %	50 %	75 %
Na-Ligninsulfonat	5 %	5 %	-
Na-Laurylsulfat	3 %	-	5 %
Na-Diisobutyl-naphthalinsulfonat	-	6 %	10 %

1385

0235085

22 -

Octylphenolpolyethylenglykol- ether (7-8 Mol AeO)	-	2 %	-
Hochdisperse Kieselsäure	5 %	10 %	10 %
Kaolin	62 %	27 %	-

Der Wirkstoff wird mit den Zusatzstoffen gut vermischt und in einer geeigneten Mühle gut vermahlen. Man erhält Spritzpulver, die sich mit Wasser zu Suspensionen jeder gewünschten Konzentration verdünnen lassen.

## Emulsions-Konzentrat

Wirkstoff aus den Tabellen	10 %
Octylphenolpolyethylenglykoether (4-5 Mol AeO)	3 %
Ca-Dodecylbenzolsulfonat	3 %
Ricinusölpolyglykoether (36 Mol AeO)	4 %
Cyclohexanon	30 %
Xylolgemisch	50 %

Aus diesem Konzentrat können durch Verdünnen mit Wasser Emulsionen jeder gewünschten Konzentration hergestellt werden.

## Stäubemittel

	a)	b)
Wirkstoff aus den Tabellen	5 %	8 %
Talkum	95 %	-
Kaolin	-	92 %

Man erhält anwendungsfertige Stäubemittel, indem der Wirkstoff mit dem Träger vermischt und auf einer geeigneten Mühle vermahlen wird.

## Extruder Granulat

Wirkstoff aus den Tabellen	10 %
Na-Ligninsulfonat	2 %
Carboxymethylcellulose	1 %
Kaolin	87 %

2834

87244392

1386

**0235085**

- 30 -

Der Wirkstoff wird mit den Zusatzstoffen vermisch, vermahlen und mit Wasser angefeuchtet. Dieses Gemisch wird extrudiert und anschliessend im Luftstrom getrocknet.

Tabellen bzw. Boli

I	Ein Wirkstoff aus den Tabellen	33,0 %
	Methylcellulose	0,80 %
	Kieselsäure hochdispers	0,80 %
	Maisstärke	8,40 %

Methylcellulose in Wasser einrühren und quellen lassen; Kieselsäure in die Quellung einrühren und homogen suspendieren. Wirkstoff und Maisstärke mischen. In diese Mischung die wässrige Suspension einarbeiten und zu einem Teig kneten. Diese Masse durch ein Sieb (Maschenweite 12 M) granulieren und dann trocknen.

II	Milchzucker krist.	22,50 %
	Maisstärke	17,00 %
	mikrokrist. Cellulose	16,50 %
	Magnesiumstearat	1,00 %

Alle 4 Hilfstoffe gut mischen

Phasen I und II mischen und zu Tabletten oder Boli verpressen.

Falls die Verbindungen der Formel I bzw. entsprechende Mittel zur Bekämpfung von endoparasitären Nematoden, Cestoden und Trematoden bei Haus- und Nutztieren, wie Rindern, Schafen, Ziegen, Katzen und Hunden, verwendet werden, können sie den Tieren sowohl als Einzeldosis wie auch wiederholt verabreicht werden, wobei die einzelnen Gaben je nach Tierart vorzugsweise zwischen 0,1 und 10 mg pro kg Körpergewicht betragen. Durch eine protrahierte Verabreichung erzielt man in manchen Fällen eine bessere Wirkung oder man kann mit geringeren Gesamtdosen auskommen. Der Wirkstoff bzw. die ihn enthaltenden Mittel können auch dem Futter oder den Tränken zugesetzt werden. Das Fertigfutter enthält die Wirkstoffkombinationen

vorzugsweise in einer Konzentration von 0,005 bis 0,1 Gew.-%. Die Mittel können in Form von Lösungen, Emulsionen, Suspensionen, Pulver, Tabletten, Bolussen oder Kapseln peroral den Tieren verabreicht werden. Soweit die physikalischen und toxikologischen Eigenschaften von Lösungen oder Emulsionen dies zulassen, können die Verbindungen der Formel I bzw. die enthaltende Mittel an Tieren auch beispielsweise subcutan injiziert, intraruminal verabreicht oder mittels der Pour-on-Methode auf den Körper der Tiere appliziert werden. Ferner ist eine Verabreichung des Wirkstoffs an die Tiere auch durch Lecksteine (Salz) oder Molasse-Blöcke möglich.

#### Biologische Beispiele

##### B-1. Insektizide Frassgift-Wirkung bei Spodoptera littoralis

Eingetopfte Baumwollpflanzen im 5-Blatt-Stadium werden mit einer acetonisch/wässrigen Versuchslösung besprüht, die 3, 12,5 oder 50 ppm der zu prüfenden Verbindung enthält.

Nach dem Antrocknen des Belags werden die Pflanzen mit ca. 30 Larven (L<sub>1</sub>-Stadium) von Spodoptera littoralis besetzt. Pro Versuchsverbindung und pro Test-Spezies verwendet man zwei Pflanzen. Der Versuch wird bei ca. 24°C und 60 % relativer Luftfeuchtigkeit durchgeführt. Auswertungen und Zwischenauswertungen auf moribunde Tiere, Wachstum und Larven und Frassschäden erfolgen nach 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden.

Die Verbindungen der Formeln I, z.B. die Verbindungen Nr. 1.30 und 1.35, erzielten bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 3 ppm eine vollständige Abtötung nach 24 Stunden.

##### B-2. Wirkung gegen pflanzenschädigende Akariden

###### OP-sensible Tetranychus urticae

Die Primärblätter von Bohnenpflanzen (Phaseolus vulgaris) werden 16 Stunden vor dem Versuch mit einem durch T. urticae infestierten, aus einer Massenzucht stammenden Blattstück belegt. Die so mit allen Milben-Stadien infestierten Pflanzen werden nach Entfernung des



Blattstücker mit einer Versuchslösung bis zur Tropfmasse besprüht, die 0,8 ppm der zu prüfenden Verbindung enthält. Die Temperatur in der Gewächshauskabine beträgt ca. 25°C.

Nach sieben Tagen wird unter dem Binokular auf Prozentsatz mobiler Stadien (Adulte und Nymphen) und auf vorhandene Eier ausgewertet.

Die Verbindungen der Formel I aus den Tabellen, wie z.B. die Verbindungen Nr. 1.3 und 1.11 erzielten bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,8 ppm vollständige Abtötung.

#### B-3. Wirkung gegen L<sub>1</sub>-Larven von Lucilia sericata

1 ml einer wässrigen Suspension der zu prüfenden Aktivsubstanz werden so mit 3 ml eines speziellen Larvenzuchtmediums bei ca. 50°C vermischt, dass ein Homogenisat von wahlweise 100 ppm oder 10 ppm Wirkstoffgehalt entsteht. In jede Reagenzglas-Probe werden ca. 30 Lucilia-Larven (L<sub>1</sub>) eingesetzt. Nach 4 Tagen wird die Mortalitätsrate bestimmt. Alle Verbindungen der Formel I aus den Herstellungsbeispielen erzielten mit 100 ppm eine Wirkung von 100 %. Bei einer Verdünnung auf 10 ppm erzielten die Verbindungen Nr. 1.3, 1.7, 1.11, 1.15, 1.19, 1.23, 1.26, 1.30 und 1.35 ebenfalls noch volle Wirkung.

#### B-4. Akarizide Wirkung gegen Boophilus microplus (Biarra-Stamm)

Auf einer PVC-Platte wird waagrecht ein Klebstreifen so befestigt, das darauf 10 mit Blut vollgesogene Zecken-Weibchen von Boophilus microplus (Biarra-Stamm) nebeneinander in einer Reihe mit dem Rücken aufgeklebt werden können. Jeder Zecke wird mit einer Injektionsnadel 1 µl einer Flüssigkeit injiziert, die eine 1:1-Mischung von Polyethylenglykol und Aceton darstellt und in der eine bestimmte Wirkstoffmenge von wahlweise 1, 0,5 oder 0,1 µl pro Zecke gelöst ist. Kontrolltiere erhalten eine wirkstofffreie Injektion. Nach der Behandlung werden die Tiere unter Normalbedingungen in einem Insektarium bei ca. 28°C und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit gehalten, bis die Eiablage erfolgt und die Larven aus den Eiern der Kontrolltiere geschlüpft sind.

Die Aktivität einer geprüften Substanz wird mit der  $IR_{90}$  bestimmt, d.h. es wird jene Wirkstoffdosis ermittelt, bei der noch nach 30 Tagen 9 von 10 Zeckenweibchen (= 90 %) Eier ablegen, die nicht schlupffähig sind.

Die Verbindungen der Formeln I aus den Tabellen, wie z.B. die Verbindungen Nr. 1.3, 1.23, 1.26, 1.30 und 1.35 erzielen eine  $IR_{90}$  von 0,5 µg.

B-5. Versuch an mit Nematoden (*Haemonchus concortus* und *Trichostrongylus colubriformis*) infizierten Schafen

Der Wirkstoff wird als Suspension formuliert mit einer Magensonde oder durch Injektion in den Pansen eines Schafes gegeben, das mit *Haemonchus concortus* und *Trichostrongylus colubriformis* künstlich infiziert worden ist. Pro Dosis werden 1 bis 3 Tiere verwendet. Jedes Schaf wird nur einmal mit einer einzigen Dosis behandelt, und zwar wahlweise mit 0,5 mg oder 0,2 mg/kg Körpergewicht. Die Evaluierung erfolgt durch Vergleich der Anzahl der vor und nach Behandlung im Kot der Schafe ausgeschiedenen Wurmeier.

Gleichzeitig und gleichartig infizierte aber unbehandelte Schafe dienen als Kontrolle. Schafe, die mit einer der Verbindungen der Formeln I bei 1 mg/kg behandelt wurden, zeigten im Vergleich zu unbehandelten, aber infizierten Vergleichsgruppen keinen Nematodenbefall (= komplette Reduktion der Wurmeier im Kot). Selbst bei 0,2 mg erzielten die Verbindungen Nr. 1.22, 1.23 und 1.35 noch volle Wirkung

B-6. Kontaktwirkung auf *Aphis craccivora*

Erbsenkeimlinge, die mit sämtlichen Entwicklungsstadien der Laus infiziert sind, werden mit einer aus einem Emulsionskonzentrat hergestellten Wirkstofflösung besprüht, die wahlweise 50 ppm, 25 ppm oder 12,5 ppm Wirkstoff enthält. Nach 3 Tagen wird auf mehr als 80 % tote bzw. abgefallene Blattläuse ausgewertet. Nur bei dieser Wirkungshöhe wird ein Präparat als wirksam eingestuft.

0235085

- 34 -

Die Verbindungen der Formel 1 aus den Tabellen, wie z.B. die Verbindungen Nr. 1.3, 1.11 und 1.35 erzielten bei einer Konzentration von 12,5 ppm eine vollständige Abtötung (= 100 %).

B-7. Larvizidwirkung gegen Aedes aegypti

Auf die Oberfläche von 150 ml Wasser, das sich in einem Behälter befindet, wird soviel einer 0,1 %igen acetonischen Lösung des Wirkstoffes pipettiert, dass Konzentrationen von wahlweise 10 ppm, 3,3 ppm und 1,6 ppm erhalten werden. Nach Verdunsten des Acetons wird der Behälter mit ca. 30-40 3 Tage alten Aedes-Larven beschickt. Nach 1, 2 und 5 Tagen wird die Mortalität geprüft.

Die Verbindungen der Formeln 1 aus den Tabellen, wie z.B. die Verbindungen Nr. 1.7, 1.11, 1.23, 1.30 und 1.35 bewirkten in diesem Test bei einer Konzentration von 1,6 ppm bereits nach einem Tag eine vollständige Abtötung sämtlicher Larven.

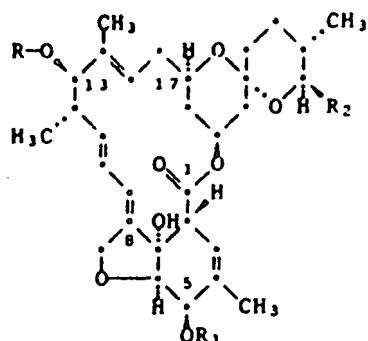
1391

2839

87244392

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I



(I)

worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet;

R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und

R für einen Zuckerrest steht.

2. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet;

R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und

R für eine Kohlenhydratgruppe -A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub> steht,

wobei A einen in 1'-Stellung verknüpften Kohlenhydratrest bedeutet, der glykosidisch an ein zweites oder drittes Kohlenhydratmolekül B und/oder C beliebiger Struktur geknüpft sein kann, wobei m und n unabhängig voneinander 0 oder 1 bedeuten.

3. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 2, worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet; R<sub>2</sub> für Methyl,

Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und

R für ein Mono-, Di- oder Triaccharid steht, ausgewählt aus der Reihe:

Glucose, Fructose, Altriose, Mannose, Sorbose, Gulose, Idose, Allose, Galactose, Ribose, Rhamnose, Arabinose, Xylose, Lyxose, Erythrose, Threose, Thamnose, Oleandrose, Altrose, Talose, Methylglucose,

0235085

- 36 -

Trimethylglukose, Tetraacetylglukose 2-Deoxy-glukose, 2-Deoxy-galactose, 2-Deoxy-Rhamnose, 2-Deoxy-ribose, Lactose, Maltose, Cellobiose, Melibiose, Gentiobiose und Oleandryl-oleandrose.

4. Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin  $R_1$  Wasserstoff bedeutet,  $R_2$  für Methyl Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht und R einen Zuckerrest repräsentiert.

5. Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R für einen der angegebenen Zuckerreste steht;  $R_1$  die Gruppe  $-Si(R_5)(R_6)(R_7)$  repräsentiert, wobei  $R_5$ ,  $R_6$  und  $R_7$  unabhängig voneinander für  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl, Benzyl oder Phenyl stehen; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

6. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 5, worin R für einen Zuckerrest steht;  $R_1$  Trimethylsilyl, tris(tert.-Butyl)-silyl, Diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(Isopropyl)methylsilyl, Triphenyl-silyl, Dimethyl-(2,3-dimethyl-2-butyl)silyl oder tert.-Butyl-dimethylsilyl bedeutet; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

7. Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin  $R_1$  für eine Acylgruppe steht;  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und R einen der angegebenen Zuckerreste repräsentiert.

8. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 7, worin  $R_1$  für Acetyl oder Benzoyl steht;  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und R einen der angegebenen Zuckerreste repräsentiert.

2841

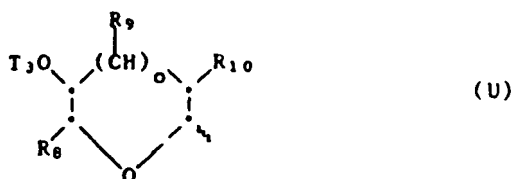
87244392

1393

0235085

- 37 -

9. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin R für den Zuckerrest der Formel U



unter Einschluss seiner Stellungen-Isomeren repräsentiert, wobei  $\alpha$  für die Zahl 0 oder 1 steht;  $R_8$  Wasserstoff, Methyl oder  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{T}_1$  bedeutet;  $R_9$  und  $R_{10}$  unabhängig voneinander für Wasserstoff oder  $\text{OT}_2$  steht, oder an Stelle von  $R_9$  und  $R_{10}$  eine Doppelbindung vorliegt;  $\text{T}_1$ ,  $\text{T}_2$  und  $\text{T}_3$  unabhängig voneinander Wasserstoff, Methyl, Benzyl, eine unsubstituierte oder halogensubstituierte  $\text{C}_1-\text{C}_6$ -aliphatische Acylgruppe, eine Benzoylgruppe, oder eine  $\text{C}_1-\text{C}_6$ -Alkoxycarbonylgruppe bedeuten, oder wobei  $\text{T}_1$  und  $\text{T}_2$  zusammen mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom eines aliphatischen oder aromatischen Aldehyds oder Ketons mit maximal 13 Kohlenstoffatomen ein cyclisches Acetal bilden;  $R_1$  Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet; und  $R_2$  für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht.

10. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 9, worin  $\text{T}_3$  für einen Zuckerrest der Formel U steht und die übrigen Substituenten wie in Anspruch 9 definiert sind.

11. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 9, worin U für einen Monosaccharidrest steht und die übrigen Substituenten wie in Anspruch 9 definiert sind.

12. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 9, worin U einen 2-Deoxyzuckerrest repräsentiert und die übrigen Substituenten wie in Anspruch 9 definiert sind.

13. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 9, worin U für einen Disaccharidrest steht und die übrigen Substituenten wie in Anspruch 9 definiert sind.

14. Eine Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3, ausgewählt aus der Reihe:

13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(4"-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-[4'-O-(L-Oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin D;  
und

13 $\beta$ -O-[4'-O-(3",4"-Di-O-methyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl]-milbemycin A<sub>4</sub>.

1395

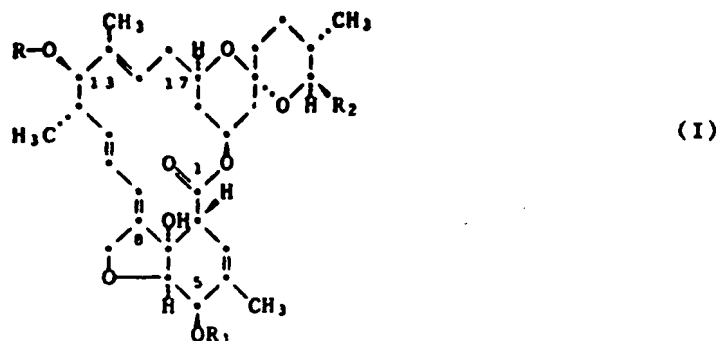
2843

87244392

0235085

- 39 -

15. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I

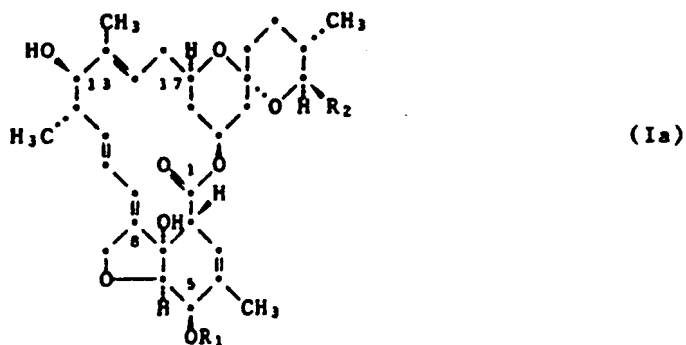


worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet;

R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und

R für einen Zuckerrest steht, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel Ia



worin

R<sub>1</sub> eine Schutzgruppe bedeutet; und

R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht  
mit einem reaktionsfähigen Zuckerderivat umgesetzt.

16. Verfahren nach Anspruch 15 zur Herstellung von Milbemycin-

Derivaten der Formel I worin R und R<sub>1</sub> die in Anspruch 1 gegebene

Bedeutung haben, und R die Gruppe -A(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub> repräsentiert, wobei

A einen in 1'-Stellung verknüpften Kohlenhydratrest bedeutet, der in  
2'-Stellung eine leicht abspaltbare, über Sauerstoff gebundene

2844

1396

87244392



0235085

- 40 -

Gruppe oder eine Hydroxigruppe besitzt, und der glykosidisch an ein zweites oder drittes Kohlenhydratmolekül B und/oder C beliebiger Struktur geknüpft sein kann, wobei m und n unabhängig 0 oder 1 bedeuten, ist gekennzeichnet im engeren Sinne durch Reaktion von 13B-Hydroxi-Milbemyein der Formel I

- a) in Gegenwart eines Silber-Altes oder Quecksilber-Salzes als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden Kohlenhydrat A oder  $A-(B)_m-(C)_n$ , worin A, B, C, m und n die für Formel I gegebene Bedeutung haben und worin sämtliche OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der in 1-Stellung durch Chlor oder Brom substituier-ten anomeren 1-OH-Gruppe unter Licht-Ausschluss im Temperaturbereich von  $-30^{\circ}\text{C}$  bis  $+60^{\circ}\text{C}$ , bevorzugt  $-5^{\circ}\text{C}$  bis  $+30^{\circ}\text{C}$ ; oder
- b) in Gegenwart von  $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$  oder  $\text{AgClO}_4$  als Kondensationsmittel mit dem einzuführenden Kohlenhydrat A oder  $A-(B)_m-(C)_n$ , worin sämtliche OH-Gruppen geschützt sind, mit Ausnahme der in 1-Stellung durch 5-(2-Pyridyl) substituierten anomeren OH-Gruppe bei  $-30^{\circ}$  bis Raumtemperatur in Tetrahydrofuran (THF) als Lösungsmittel; und sofern gewünscht, milder Verseifung der Hydroxyl-Schutzgruppen mit 25 % Ammoniak in Methanol bei  $0^{\circ}$  bis Raumtemperatur bevorzugt bei  $0-5^{\circ}$ . Nach erfolgter Glykosidierungsreaktion wird die Silyl-Schutzgruppe zweckmässigerweise durch Behandlung der Verbindung der Formel I mit einer verdünnten Säure wie z.B. mit 1 proz. p-Toluolsulfonsäure in Methanol mit einer wässrigen HF-Lösung in Acetonitril im Temperaturbereich  $-30^{\circ}$  bis  $0^{\circ}\text{C}$ , bevorzugt bei  $-10^{\circ}$  oder mit Pyridiniumfluorid in Pyridin wieder abgespalten;

und sofern gewünscht, milder Verseifung der Hydroxyl-Schutzgruppen.

17. Schädlingsbekämpfungsmittel gegen Ektoparasiten und Insekten, dass es neben üblichen Trägerstoffen und/oder Verteilungsmitteln mindestens eine Verbindung der Formel I

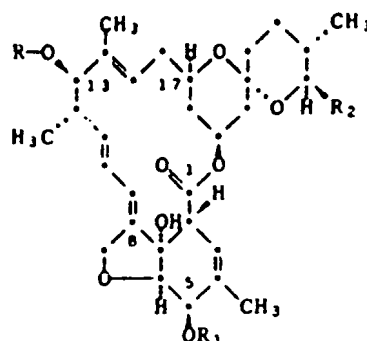
2845

1397

87244392

0235085

- 41 -



(I)

worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder eine Schutzgruppe bedeutet;

R<sub>2</sub> für Methyl, Ethyl, Isopropyl oder sek.-Butyl steht; und

R für einen Zuckerrest steht, enthält.

18. Mittel gemäss Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass es als Verbindung der Formel I mindestens eine Verbindung gemäss den Ansprüchen 2 bis 11 enthält.

19. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäss einem der Ansprüche 1 bis 14 zur Bekämpfung von Ekto-, Endoparasiten und Insekten an Tieren und Pflanzen.

20. Verwendung gemäss Anspruch 19 zur Bekämpfung von Endoparasiten im Warmblüter.

21. Verwendung gemäss Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Endoparasiten um Nematoden handelt.

22. Verfahren zur Bekämpfung von Schädlingen an Tieren und Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel I gemäss einem der Ansprüche 1 bis 14 auf oder in das Tier, auf die Pflanze oder deren Lebensraum appliziert.

1398

2846

PO 7.5 HL/we\*

87244392



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0235085  
Nummer der Anmeldung

EP 87 81 0088

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 4)
Y	EP-A-0 007 812 (MERCK & CO.) * Seiten 53, 54 *	1, 17	C 07 D 493/22 A 01 N 43/90 (C 07 D 493/22 C 07 D 313:0C C 07 D 311:00 C 0, D 311:00 C 07 D 307:00 )
Y, P	EP-A-0 180 539 (CIBA-GEIGY) * Seiten 45-52 *	1, 17	
Y, P	EP-A-0 184 173 (CIBA-GEIGY) * Seiten 45-57 *	1, 17	
Y, P	EP-A-0 189 159 (CIBA-GEIGY) * Seiten 50-56 *	1, 17	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 4)
			C 07 D 493/00 A 01 N 43/00
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 18-05-1987	Prüfer VERHULST W.
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet</p> <p>Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie</p> <p>A : technologischer Hintergrund</p> <p>O : nichtschriftliche Offenbarung</p> <p>P : wissenschaftliche Literatur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze</p> </div> <div> <p>E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>D : in der Anmeldung angeführtes Dokument</p> <p>L : aus andern Gründen angeführtes Dokument</p> <p>A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p> </div> </div>			

EPA form 1983 (3.12.82)

## [12] EUROPEAN PATENT APPLICATION

[21] Application No.: 87810088.2

[51] Int. Cl.<sup>3</sup> C 07 D 493/22

A 01 N 43/90

[22] Date of Application: 16/02/87

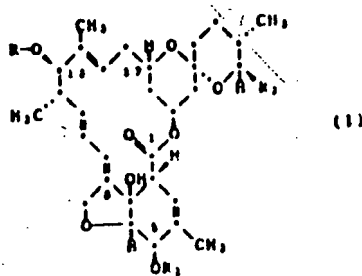
// (C07D493/22, 313:00,  
311:00, 311:00, 307:00)

[30] Priority: 20/02/86 CH 674/86

[71] Applicant: CIBA-GEIGY AG  
Klybeckstrasse 141  
CH-4002 Basel (CH)[43] Date of Publication of Application:  
02/09/87 Patent Gazette 87/36[72] Inventor: Dr. Bruno Frei  
Bündenstrasse 16  
CH-4410 Liestal (CH)[54] Convention Countries:  
AT BE CH DE ES FR GB GR  
IT LI LU NL SE[72] Inventor: Dr. Mereyala, Hari Babu  
NCL-Colony, C-5  
Pashan Pune - 411008 (IN)

2805

1357

[54] 13 $\beta$ -sugar-milbemycin derivatives, their preparation and their use  
against ectoparasites and endoparasites of useful animals and  
economic plants[57] Highly active parasitocidal and  
insecticidal substances of formula I

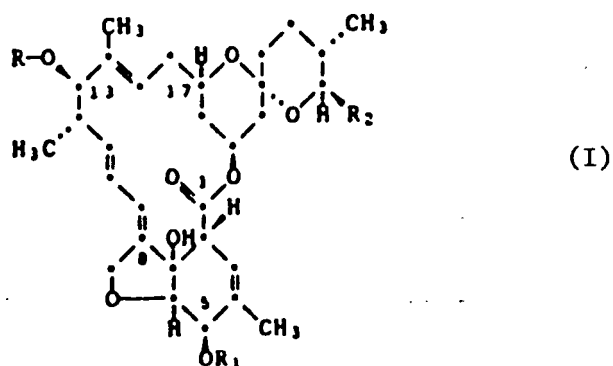
CIBA-GEIGY AG  
Basel (Switzerland)

5-15762/-

138-sugar-milbemycin derivatives, their preparation and use against ectoparasites and endoparasites of useful animals or economic plants

The present invention relates to new 13 $\beta$ -sugar-milbemycin derivatives having the formula I below, their preparation and their use for controlling pests such as ectoparasites and endoparasites of animals or plants.

The compounds according to the invention are 13 $\beta$ -sugar-milbemycin derivatives of the general formula I



wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;

R<sub>2</sub> stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and

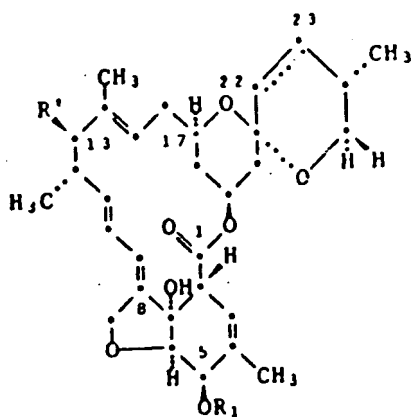
R stands for a sugar residue.

Depending on the number of carbon atoms indicated, the term alkyl by itself or as a component of another substituent will be understood to mean e.g. the following groups: Methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl, decyl, etc., as well as the isomers thereof, e.g. isopropyl, isobutyl, tert.-butyl, isopentyl, etc. Here and in the following part of this specification the OH- protecting groups for the constituent  $R_1$  include the protecting groups customarily used in organic chemistry. These are particularly acyl and silyl groups. Suitable acyl groups are e.g. the residues  $R_1-C(O)-$ , wherein  $R_4$   $\overline{[sic]}$  has the meaning indicated for formula I and preferably stands for  $C_1-C_6$ -alkyl,  $C_1-C_6$ -haloalkyl, unsubstituted phenyl or halogen-,  $C_1-C_3$ -alkyl-,  $CF_3$ - or nitro-substituted phenyl. A suitable silyl group for  $R_1$  is the residue  $-Si-(R_5)(R_6)(R_7)$ , wherein  $R_5$ ,  $R_6$  and  $R_7$ , preferably independently of one another, are  $C_1-C_4$ -alkyl, benzyl or phenyl and form e.g. one of the groups trimethylsilyl, tris(tert.-butyl)silyl, diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(isopropyl)methylsilyl, dimethyl - (2,3-dimethyl-2-butyl)silyl, triphenylsilyl, etc., and, in particular, tert.-butyl-dimethylsilyl. The 5-OH group can also be present as benzyl ether or methoxy-ethoxymethyl ether.

Here and in the following part of this specification, compounds wherein  $R_2$  represents sec.-butyl will also be considered as belonging to the milbemycin derivatives, although, according to the usual classification, they do not fall under this designation but, in accordance with U.S. Patent No. 4,173,5 , are derived from avermectin derivatives.

Compounds of formula I wherein  $R_1$  represents a protecting group can be converted by simple, e.g. hydrolytic cleavage of the protecting function into the highly active free 5-hydroxy derivatives ( $R_1 = H$ ), and thus act as intermediates. In principle, however, the biological value of these compounds is not diminished by the protecting group.

In naturally occurring milbemycins ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = CH_3$ ,  $C_2H_5$  or  $iso-C_3H_7$ ) the substituent  $R'$  in the 13-position is always hydrogen.



(Constitution of natural milbemycin)

By contrast, in avermectins an  $\alpha$ -L-oleandrosyl- $\alpha$ -L-oleandrose residue that is bonded through oxygen in the  $\alpha$ -configuration to the macrolide molecule is in the 13-position as  $R'$ . Furthermore, avermectins differ structurally from the milbemycins by the presence of a 23-OH group or  $\Delta^{22,23}$  double bond and, usually, by a substituent  $R_2 = sec.-C_4H_9$ . By hydrolysis of the sugar residue of avermectins the corresponding avermectin aglycones containing an allylic 13 $\alpha$ -hydroxy group can readily be obtained. In the avermectin derivatives of the present invention the  $\Delta^{22,23}$  double bond is always present in hydrogenated form.

Formula I thus represents milbemycin derivatives which carry in the 5-position a free OH group, a silyl group or acyl group, and in the 13 $\beta$ -position a mono-, di- or trisaccharide bonded through an oxygen, as substituents.

Within the scope of the present invention a sugar residue will be understood to mean preferably the carbohydrate group  $-A-(B)_m-(C)_n$ , wherein A is a carbohydrate residue bonded in the 1'-position and which can be bonded glycosidically to a second or third carbohydrate molecule B and/or C of any structure, with m and n independently of one another representing 0 or 1.

Thus, examples of suitable sugar residues are the following residues present in the furanosyl or pyranosyl form:

Monosaccharides: Glucose, fructose, altrose, mannose, sorbose, gulose, idose, allose, galactose, ribose, rhamnose, arabinose, xylose, lyxose, erythrose, threose, thamnose, oleandrose, altrose, talose, as well as their corresponding derivatives such as methylglucose, trimethyl glucose and tetraacetyl glucose, as well as mono- or poly-O-acylated or O-alkylated sugars; and deoxy sugars such as 2-deoxyglycose, 2-deoxygalactose, 2-deoxyrhamnose and 2-deoxyribose and their corresponding derivatives;

Disaccharides: Lactose, maltose, cellobiose, melibiose, gentiobiose, oleandryl-oleandrose and any combinations of two or the aforementioned sugar components and their corresponding derivatives.

Furthermore, the carbohydrates indicated for formula I also include



saccharides which additionally contain an amino group, a thiol group or a cyclic acetal group formed from two adjacent OH-groups and an aldehyde or ketone.

The bonding of a saccharide with the oxygen atom in the 13 $\beta$ -position of the compounds of structure I and the bonding between the sugar residues of a di- or trisaccharide can be in the form of an  $\alpha$ -anomer or  $\beta$ -anomer. The present invention relates to both types of bonding.

Suitable for the formation of a cyclic acetal bonded to a sugar molecule are simple aldehydes such as acetaldehyde, propionaldehyde, butyraldehyde, benzaldehyde, or ketones such as acetophenone, cyclopentanone, cyclohexanone, cycloheptanone, fluorenone, methyl ethyl ketone, and, above all, acetone with the formation of corresponding acetonides.

On account of their pronounced parasitocidal and insecticidal activity the following subgroups of compounds of formula I are particularly preferred:

Group Ia: Compounds of formula I, in which R stands for a carbohydrate group  $-A-(B)_m-(C)_n$ , wherein A represents a carbohydrate residue that is bonded in the 1'-position and which can be bonded glycosidically to a second or third carbohydrate molecule B and/or C of any structure and wherein m and n independently of one another represent 0 or 1;  $R_1$  is hydrogen or a protecting group; and  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

Group Ib: Those compounds within subgroup Ia wherein  $R_1$  stands for hydrogen.

Group Ic: Compounds of formula I within subgroup Ia, wherein  $R_1$  represents

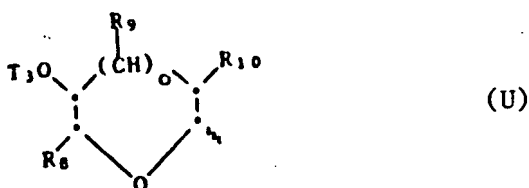
the group  $-\text{Si}(\text{R}_5)(\text{R}_6)(\text{R}_7)$ , with  $\text{R}_5$ ,  $\text{R}_6$  and  $\text{R}_7$  independently of one another representing  $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alkyl, benzyl or phenyl, and  $\text{R}_2$  representing methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

Group Id: Those compounds within subgroup Ic wherein  $\text{R}_1$  is trimethylsilyl, tris(tert.-butyl)-silyl, diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(isopropyl)methylsilyl, triphenylsilyl, dimethyl-(2,3-dimethyl-2-butyl)silyl or tert.-butyl-dimethylsilyl; and  $\text{R}_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

Group Ie: Those compounds within the scope of subgroup Ia wherein  $\text{R}_1$  represents an acyl group.

Group If: Those compounds within the scope of subgroup Ia wherein  $\text{R}_1$  represents an acetyl or benzoyl group.

Group Ig: Compounds of formula I wherein R stands for the sugar residue of formula U:



including the position isomers thereof, wherein o stands for 0 or 1;  $\text{R}_8$  is hydrogen, methyl or  $-\text{CH}_2\text{-O-T}_1$ ;  $\text{R}_9$  and  $\text{R}_{10}$  independently of one another are hydrogen or  $\text{OT}_2$ , or a double bond is present in the place of  $\text{R}_9$  and  $\text{R}_{10}$ ;  $\text{T}_1$ ,  $\text{T}_2$  and  $\text{T}_3$  independently of one another represent hydrogen, methyl, benzyl, an unsubstituted or halogen-substituted  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -aliphatic acyl group, a benzoyl group or a  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -alkoxycarbonyl group, or where  $\text{T}_1$  and  $\text{T}_2$  together with the

carbonyl carbon atom of an aliphatic or aromatic aldehyde or ketone form a cyclic acetal containing not more than 13 carbon atoms;  $R_1$  is hydrogen or a protecting group; and  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

Group Ih: Compounds of formula I from subgroup Ig wherein  $T_3$  stands for a sugar residue of formula U and  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$ ,  $T_1$  and  $T_2$  have the above-indicated meaning.

Group Ii: Compounds of formula I from subgroup Ig wherein U stands for a monosaccharide.

Group Ik: Compounds of formula I from subgroup Ii wherein U represents a 2-deoxysugar residue.

Group Il: Compounds of formula I from subgroup Ig, wherein U stands for a disaccharide.

Examples of particularly preferred individual substances of formula I are:

13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D;

13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl $\overline{7}$ -milbemycin D;

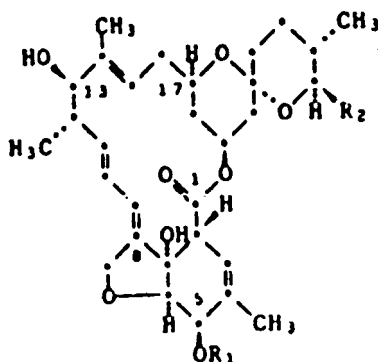
13 $\beta$ -O-4'-O-(L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl17-milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-4'-O-(4''-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl17-milbemycin A<sub>4</sub>;

13 $\beta$ -O-4'-O-(L-Oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl17-milbemycin D:

13 $\beta$ -O-4'-O-(3'',4''-di-O-methyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl17-milbemycin A<sub>4</sub>.

The present invention relates not only to the compounds of formula I, but also to the process of preparation thereof. It has surprisingly been found that the compounds of formula I are obtained by reacting a compound of formula Ia



wherein

R<sub>1</sub> is a protecting group, and

R<sub>2</sub> stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl,

with a reactive sugar derivative.

Thus the process according to the invention affords the possibility of selectively introducing a sugar residue R bonded through an oxygen atom and defined under formula I, specifically in the 13 $\beta$ -position of milbemycin or

13-deoxy-22,23-dihydroxyavermectin-B1-aglycone derivatives and thereby obtain highly active parasiticides and insecticides which, furthermore, may be used for further derivatizations.

The preparation of compounds of formula I which carry a protecting group on the oxygen atom in the 5-position represents a derivatization of the reactive 13 $\beta$ -hydroxy group of 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin with a suitable carbohydrate molecule, and is carried out by one of the bonding methods used in sugar chemistry, e.g. according to the Koenigs-Knorr synthesis, the Ag triflate process, the so-called orthoester process, phenylthio synthesis or 2-pyridylthio synthesis.

A) According to the Koenigs-Knorr synthesis or the silver triflate process a 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin of the formula ( $R_1$  = a silyl or acyl protecting group) is reacted, in the presence of a silver salt or mercury salt as condensing agent, with the sugar residue to be introduced, the carbohydrate A or  $A-(B)_m-(C)_n$  wherein A, B, C, k  $\overline{[sic]}$  and m have the meaning indicated for formula I and wherein all the OH groups are protected with the exception of the chlorine- or bromine-substituted 1-OH group, in the temperature range of from -30°C to +60°C, preferably from -5°C to +30°C with the exclusion of light. If a residue  $A-(B)_m-(C)_n$  is to be added in the 13 $\beta$ -position, then the desired carbohydrate may be bonded stepwise to a 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin, or said carbohydrate, preferably as an already preformed glycoside, may be bonded to the 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin in one reaction step.

Suitable for use as silver salt is freshly precipitated Ag<sub>2</sub>O, but preferably

$\text{Ag}_2\text{CO}_3$  or  $\text{CF}_3\text{-COOAg}$ . Particularly preferred is silver trifluoromethanesulfonate (Ag-triflate =  $\text{CF}_3\text{-SO}_3\text{Ag}$ ), in whose presence the glycosidation takes place rapidly even at minus temperatures. To activate the  $13\beta\text{-OH}$  group of the  $13\beta\text{-hydroxymilbemycin}$  and to neutralize any resulting  $\text{CF}_3\text{-SO}_3\text{H}$  or  $\text{CF}_3\text{COOH}$  it is expedient to add a tertiary amine (triethylamine, diisopropylethylamine, diazabicycloundecane, etc.) to the reaction solution.

If desired the protecting groups may subsequently be split off from the sugar residue by mild saponification (e.g.  $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ ). Suitable solvents for this partial step are in particular anhydrous aprotic solvents such as dichloromethane, acetonitrile, benzene, toluene, nitromethane, dioxane, THF, ethylene glycol dimethyl ether; diethyl ether is particularly suitable.

The protected 1-chloro- or 1-bromocarbohydrate is used in equimolar amount based on the  $13\beta\text{-hydroxymilbemycin}$  (Ia); preferably, however, it is used in a 1.5 to 3-fold excess. To obtain a satisfactory yield the reaction time is 5 to 72 hours.

Instead of the silver salt, Hg cyanide or a combination of HgO with either Hg chloride or Hg bromide may be used (Helferich synthesis).

In accordance with a further variant the reactivity in the  $1'$ -position of the carbohydrate to be bonded glycosidically, whose further OH groups must be protected, can be increased by initial conversion into the  $1'$ -phenylthio derivative and subsequent reaction with DAST (= diethylaminosulfur trifluoride) in absolutely dry dichloromethane (molecular sieve) at  $+5^\circ\text{C}$  to  $-30^\circ\text{C}$  to give the  $1'$ -fluoro derivative. Compared with the  $1'$ -chloro or  $1'$ -bromo

derivative used in the Koenigs-Knorr synthesis, the 1'-fluoro derivative of the carbohydrate reactant obtained in this way can be bonded more reactively with 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin (Ia) in the presence of SnCl<sub>2</sub> and AgClO<sub>4</sub>, in a dry aprotic solvent such as diethyl ether, under a protective gas such as argon, at +5°C to -30°C (J. Am. Chem. Soc. 106, 4189-4192 (1984)).

B) A better reaction is obtained if the protected carbohydrate to be activated in the 1'-position is converted, at about 0°C and in an argon atmosphere, with 2,2'-dithiopyridine in dry dichloromethane, into the 1'-S-(2-pyridyl) carbohydrate, which readily reacts with the free 13 $\beta$ -OH group of the 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin of formula Ia in the presence of Pb(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> or AgClO<sub>4</sub> as condensing agent, at -30°C to room temperature and in tetrahydrofuran as solvent, to form the glycosidic bond (J. Org. Chem. 48, 3489-3493, 1983) .

C) Glycosidic bonds can also be obtained in the presence of Lewis acids, such as AlCl<sub>3</sub>, AlBr<sub>3</sub>, SnCl<sub>4</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub> (and, in particular, the etherate), with acetylated sugars, in particular, being very suitable for this purpose (Chimia 21, 1967, pp. 537-538).

D) According to the so-called orthoester method glycosidic bonds can also be obtained by reacting the 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin of formula Ia with the sugar to be bonded, whose OH groups are protected, in the presence of the orthoester of a lower alcohol, one of whose alcoholic components is the sugar reactant.

E) To prepare 13 $\beta$ -O-glycoside-milbemycin derivatives wherein the sugar residue is a 2,3-dideoxy-2,3-didehydroglycopyranoside, the 5-O-protected 13 $\beta$ -hydroxy-

milbemycin of formula Ia can be reacted with acetylated glycals in the presence of p-toluenesulfonic acid at room temperature (Ferrier reaction).

The process for the preparation of 13 $\beta$ -O-glycoside-milbemycin derivatives of the formula wherein R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, A, B, C, m and n have the meaning indicated for formula I, is characterized, in the narrower sense, by reacting 5-O-protected 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin of formula Ia

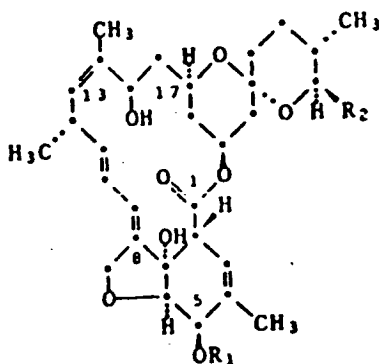
- a) with the carbohydrate A or A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub> to be introduced, wherein A, B, C, m and n have the meaning indicated for formula I and wherein all OH groups are protected with the exception of the anomeric 1-OH group substituted in the 1-position by chlorine or bromine, in the presence of a silver salt or mercury salt as condensing agent, with the exclusion of light and in the temperature range of from -30°C to +60°C, preferably from -5°C to +30°C; or
- b) with the carbohydrate A or A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub> to be introduced, wherein all OH groups are protected with the exception of the anomeric 1-OH group substituted in the 1-position by fluorine, in the presence of SnCl<sub>2</sub> and AgClO<sub>4</sub> as condensing agents, with the exclusion of light and in the temperature range of from +5°C to -30°C; or
- c) with the carbohydrate A or A-(B)<sub>m</sub>-(C)<sub>n</sub> to be introduced, wherein all OH groups are protected with the exception of the anomeric OH group substituted in the 1-position by 5-(2-pyridyl), in the presence of Pb(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> or AgClO<sub>4</sub> as condensing agent, at -30° to room temperature, in tetrahydrofuran (THF) as solvent, and, if desired, by mild saponification of the hydroxyl-



protecting groups with 25% ammonia in methanol at 0° to room temperature, preferably at 0-5°. After conclusion of the glycosidation reaction the silyl protective group is expediently split off by treating the compound of formula I with a dilute acid such as e.g. 1% p-toluenesulfonic acid in methanol, with an aqueous HF solution in acetonitrile in the temperature range of from -30° to 0°C, preferably at -10°, or with pyridinium fluoride in pyridine.

The carbohydrate molecules  $A-(B)_m-(C)_n$  are known or may be prepared analogously to known representatives of these compounds.

The 13β-hydroxy compounds of formula Ia, wherein  $R_1$  stands for a protecting group, can be prepared from compounds of formula II by reaction with pyridinium dichromate (PDC =  $(Pyr)_2Cr_2O_7$ ). The reaction is carried out in dimethylformamide (DMF) at temperatures between about -10° and +60°C. The compounds of formula II wherein  $R_1$  and  $R_2$  have the meaning indicated for formula I are known from European Patent Application No. 147,852.



(II)

The compounds of formula I are highly suitable for controlling pests of animals and plants, including ectoparasites of animals. These last-mentioned

pests include those of the order Acarina, in particular pests of the families Ixodidae, Dermanyssidae, Sarcoptidae, Psoroptidae; of the orders Mallophaga; Siphonaptera, Anoplura (e.g. family of the Haemotopinidae); and, of the order Diptera, in particular pests of the families Muscidae, Calliphoridae, Oestridae, Tabanidae, Hippoboscidae and Gastrophilidae.

The compounds I can also be used against hygiene pests, particularly the orders Diptera with the families Sarcophagidae, Anophilidae, Culicidae; of the order Orthoptera; of the order Dictyoptera (e.g. family of the Blattidae), and of the order Hymenoptera (e.g. family of the Formicidae).

The compounds I also have a lasting action against mites and insects that are parasites of plants. When used against spider mites of the order Acarina, they are active against eggs, nymphs and adults of Tetranychidae (Tetranychus spp. and Panonychus spp.).

They are also highly active against sucking insects of the order Homoptera, in particular against pests of the families Aphididae, Delphacidae, Cicadellidae, Psyllidae, Loccidae, Diaspididae and Eriophydidae (e.g. rust mites on citrus fruit); of the orders Hemiptera, Heteroptera and Thysanoptera; as well as against plant-feeding insects of the orders Lepidoptera, Coleoptera, Diptera and Orthoptera.

They are also suitable as soil insecticides against soil pests.

Hence the compounds of formula I are effective against all development stages of sucking and feeding insects in crops such as cereals, cotton, rice, corn,

soybeans, potatoes, vegetables, fruits, tobacco, hops, citrus fruit, avocados and others.

The compounds of formula I are also effective against plant nematodes of the genera *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Pratylenchus*, *Ditylenchus*, *Radopholus*, *Rizoglyphus* and others.

However, the compounds are particularly effective against helminths, among which the endoparasitic nematodes can be the cause of severe diseases in mammals and fowl, e.g. in sheep, pigs, goats, cattle, horses, donkeys, dogs, cats, guinea pigs, ornamental birds. Typical nematodes having this indication are: *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Ascaris*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Charbertia*, *Trichuris*, *Strongylus*, *Trichonema*, *Dictyocaulus*, *Capillaria*, *Heterakis*, *Toxocara*, *Ascaridia*, *Oxyuris*, *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Toxascaris* and *Parascaris*. The particular advantage of compounds of formula I is their effectiveness against parasites that are resistant to benzimidazole-based active substances.

Certain species of the genera *Nematodirus*, *Cooperia* and *Oesophagostomum* attack the intestinal tract of the host animal, whereas others of the genera *Haemonchus* and *Ostertagia* parasitize in the stomach, and those of the genera *Dictyocaulus* in the lung tissue. Parasites of the families *Filariidae* and *Setariidae* are found in internal cell tissue and in organs, e.g. in the heart, blood vessels, lymph vessels and subcutaneous tissue. In this connection mention should be made above all of the dog heartworm, *Dirofilaria immitis*. The compounds of formula I are highly effective against these parasites.

They are also suitable for controlling pathogenic parasites in humans, among which may be mentioned, as typical representatives occurring in the digestive tract, those of the genera *Ancylostoma*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capillaria*, *Trichuris* and *Enterobius*. The compounds

of the present invention are also effective against parasites of the genera Wuchereria, Brugia, Onchocerca and Loa of the family of Filariidae which occur in the blood, in tissue and in various organs; as well as against Dracunculus and parasites of the genera Strongyloides and Trichinella, which infest in particular the gastrointestinal tract.

The compounds of formula I are used in unchanged form or preferably in combination with adjuvants commonly used in the art of formulation, and are therefore formulated in a known manner e.g. as emulsion concentrates, directly sprayable or dilutable solutions, dilute emulsions, wettable powders, soluble powders, dusts, granulates and also encapsulations in e.g. polymer substances. As with the nature of the compositions, the modes of application such as spraying, atomizing, dusting, scattering or pouring are chosen in accordance with the intended objectives and the prevailing circumstances.

The compounds of formula I are used in warm-blooded animals in amounts of from 0.01 to 10 mg per kg of body weight, and applied to enclosed crop areas, to pens, stables or other spaces in amounts of from 10 g to 1000 g per hectare.

The formulations, i.e. the agents, preparations or compositions containing the active substance of formula I, are prepared in a known manner, e.g. by intimately mixing and/or grinding the active substances with extenders, such as solvents, solid excipients, and optionally with surface-active compounds (surfactants).

Suitable solvents are aromatic hydrocarbons, preferably the C<sub>8</sub> to C<sub>12</sub> fractions, such as xylene mixtures or substituted naphthalenes, phthalic acid esters such as dibutyl phthalate or dioctyl phthalate, aliphatic hydrocarbons such as cyclohexane or paraffins, alcohols and glycols and their ethers and esters, such as ethanol, ethylene glycol, ethylene glycol monomethyl ether or ethylene glycol monoethyl ether, ketones such as cyclohexanone, strongly polar solvents such as N-methyl-2-pyrrolidone, dimethyl sulfoxide or dimethylformamide, and, optionally, epoxidated vegetable oils such as epoxidated coconut oil or soybean oil; or water.

Used as solid excipients, e.g. for dusts and dispersible powders are, as a rule, natural mineral meals such as calcite, talc, kaolin, montmorillonite or attapulgite. To improve the physical properties highly dispersed silica or highly dispersed adsorptive polymers can also be added. Suitable granulated adsorptive granulate excipients are porous types such as pumice, broken brick, sepiolite or bentonite; suitable nonadsorptive excipient materials are e.g. calcite or sand. Moreover a large number of pregranulated materials of inorganic or organic nature can also be used, such as, in particular, dolomite or comminuted plant residues.

Depending on the nature of the active substance to be formulated, suitable surface-active compounds are nonionogenic, cationic and/or anionic surfactants with good emulsifying, dispersing and wetting characteristics. The term "surfactants" is understood to include mixtures of surfactants as well.

Suitable anionic surfactants may be both so-called water-soluble soaps and water-soluble synthetic surface-active compounds.

Among the soaps, mention will be made of alkali metal salts, alkaline earth metal salts or optionally substituted ammonium salts of higher fatty acids ( $C_{10}-C_{22}$ ) such as the Na or K salts of oleic or stearic acid, or of natural fatty acid mixtures which can be obtained e.g. from coconut oil or tallow oil. Furthermore, mention will also be made of the fatty acid methyltaurine salts.

More frequently, however, so-called synthetic surfactants are used, particularly fatty sulfonates, fatty sulfates, sulfonated benzimidazole derivatives or alkylaryl sulfonates.

The fatty sulfonates or sulfates are usually in the form of alkali metal salts, alkaline earth metal salts or optionally substituted ammonium salts and contain an alkyl residue of 8 to 22 carbon atoms, with the term "alkyl" also including the alkyl part of acyl residues, e.g. the Na or Ca salt of lignin sulfonic acid, dodecylsulfuric acid esters or a mixture of fatty alcohol sulfates prepared from natural fatty acids. Also included herein are the salts of the sulfuric acid esters and sulfonic acids of fatty alcohol/ethylene oxide adducts. The sulfonated benzimidazole derivatives preferably contain 2 sulfonic acid groups and one fatty acid residue having 8 to 22 carbon atoms. Alkylaryl sulfonates are e.g. the Na, Ca or triethanolamine salts of dodecylbenzenesulfonic acid, of dibutyl-naphthalenesulfonic acid or of a naphthalenesulfonic acid/formaldehyde condensation product.

Also suitable are corresponding phosphates, such as e.g. the salts of the phosphoric acid ester of a p-nonylphenyl/(4-14)-ethylene oxide adduct, or phospholipids.

The surfactants customarily used in the art of formulation are described in the following publication, among others:

"McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual"  
MC Publishing Corp., Ridgewood, New Jersey, 1982.

The pesticidal compositions usually contain from 0.01 to 95%, in particular from 0.1 to 80%, active substance of formula I, from 5 to 99.99% of a solid or liquid additive, and from 0 to 25%, in particular from 0.1 to 25%, of a surfactant.

While concentrated formulations are preferred as commercial products, the end user will generally use dilute materials having active-substance concentrations of from 1 to 10,000 ppm.

Hence the present invention also relates to pest control compositions which contain, as active substance, at least one compound of formula I, together with conventional excipients and/or dispersing agents.

The compositions may also contain other additives such as stabilizers, antifoams, viscosity regulators, binders, adhesives, as well as fertilizers or other active substances in order to obtain special effects.

#### PREPARATORY EXAMPLES

##### Preparation of starting products and intermediates

Example A1: Preparation of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin D and of 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin D (Formula Ia)

A solution consisting of 286 mg (0.41 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-

15-hydroxy- $\Delta^{13,14}$ -milbemycin D and 209 mg (0.56 mmol) of pyridinium dichromate (PDC) in 3 ml of dimethylformamide (DMF) is stirred for 30 minutes at room temperature. Thereupon 1 ml of isopropanol is added, the solution is further stirred for 5 minutes and then diluted with 50 ml of ether. After an additional 10 minutes the mixture is filtered through silica gel and concentrated. On chromatography of the crude product on 20 g of silica gel (ether/hexane 1:2) 165 mg (57%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D is obtained.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

1.59 ppm (br. s) ( $\text{C}_{14}\text{CH}_3$ )

3.70 ppm (d;  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

105 mg (0.153 mmol) of the compound obtained in this manner is stirred with 1 ml of a 1% solution of p-toluenesulfonic acid in methanol for 1 hour at room temperature. The mixture is diluted with 20 ml of ether, filtered through silica gel, concentrated, and the residue is chromatographed on about 10 g of silica gel (acetone/dichloromethane 1:4), whereby 73 mg (83%) of 13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D is obtained.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

1.58 ppm (br. s) ( $\text{C}_{14}\text{CH}_3$ )

3.71 ppm (d;  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

Example A2: Preparation of 5-O-tert.-butylmethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin A<sub>4</sub>

A solution consisting of 1.06 mg (1.59 mmol) of 5-tert.-butyldimethylsilyl-



15-hydroxy- $\Delta^{13,14}$ -milbemycin A<sub>4</sub> and 383 mg (1.02 mmol) of pyridinium dichromate (PDC) in 5 ml of dimethylformamide (DMF) is stirred for 30 minutes at room temperature. 1 ml of isopropanol is then added, the stirring is continued for 5 minutes and the solution is diluted with 50 ml of ether. After an additional 10 minutes the mixture is filtered through silica gel and concentrated. After chromatographic purification of the crude product on 20 g of silica gel (ether/hexane 1:2) 625 mg (59%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin A<sub>4</sub> is obtained.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

0.98 ppm (t; J = 7 Hz) (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)

1.95 ppm (br. s) (C<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>)

3.69 ppm (d; J = 9 Hz) (C<sub>13</sub>H).

#### Preparation of end products of formula I:

##### Example H1: Preparation of 13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-milbemycin D

To a solution of 200 mg (0.29 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D in 3 ml of abs. THF is added under argon a solution of 122 mg (0.38 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-3,4-di-O-acetyl-2-deoxy-L-thiorhamnose in 2 ml of abs. THF, followed by the addition, at 0°, of a solution of 122 mg (217 mmol) of AgClO<sub>4</sub> in 1 ml of abs. THF. The mixture is stirred for 30 minutes at room temperature. To work up the reaction mixture it is treated at -30° with 2 ml of triethylamine, then taken up in diethyl ether and filtered. Chromatographic purification on silica gel (eluent: acetone/dichloromethane 1:19) affords 50 mg (19%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-

(3,4-di-O-acetyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D and 80 mg (31%) of 5-O-tert.-butyl-dimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(3,4-di-O-acetyl-S-deoxy- $\beta$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D. These two silyl ethers are treated for 4 hours at  $-10^{\circ}$  with a solution of 3 ml of 1% p-toluenesulfonic acid (TsOH) in methanol (MeOH), and after chromatographic purification on silica gel (eluent: acetone/dichloromethane 1:9) 43 g (100%) of 13 $\beta$ -O-(3,4-di-O-acetyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.76 ppm (d,  $J = 10$ , 1 Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

2.01, 2.03 ppm (2s) ( $2 \text{ CH}_3\text{CO}_2$ )

5.3–5.4 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ )

and 50 mg (86%) of 13 $\beta$ -O-(3,4-di-O-acetyl-2-deoxy- $\beta$ -L-rhamnosyl)-milbemycin D

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.47 ppm (d,  $J = 10.0$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

2.00, 2.04 ppm (2s) ( $2 \text{ CH}_3\text{CO}_2$ )

4.90–4.94 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ )

are obtained.

Example H2: Preparation of 13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D

To a solution of 100 mg (0.146 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethyl-silyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D and 51 mg (0.238 mmol) of di-O-acetyl-L-rhamnal in 0.5 ml of dry dichloromethane is added at room temperature 5 mg (0.029 mmol) of

p-toluenesulfonic acid (TsOH). The mixture is treated with 1 ml of triethylamine, taken up in diethyl ether and filtered. Chromatographic purification on silica gel (eluent: acetone/dichloromethane 1:40) affords 79 mg (64%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D. The silyl ether protecting group is removed by treatment with a solution of 1% p-toluenesulfonic acid in methanol for 3 hours at -10 $^{\circ}$ . After chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/ethyl acetate 2:1) 45 mg (66%) of 13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D (mixture of  $\alpha$  and  $\beta$  anomers; ratio about 3:1) is obtained.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

2.06 and 2.07 ppm (s) ( $\text{CH}_3\text{COO}$ )

3.53 and 3.87 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

4.95-5.05 ppm (m) ( $\text{C}_2'\text{H}$  and  $\text{C}_3'\text{H}$ ).

Example H3: Preparation of 13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl-L-oleandrosyl)-milbemycin D

To a solution of 330 mg (0.48 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin D in 7 ml of abs. THF are added under argon a solution of 185 mg (0.62 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-4-O-acetyl-L-thiooleandrose in 2 ml of abs. THF; and, at -20 $^{\circ}$ , 271 mg (1.25 mmol) of  $\text{AgClO}_4$  in 1 ml of abs. THF. The mixture is heated in 15 minutes to room temperature and worked up by adding 1 ml of triethylamine, dissolving in diethyl ether and filtering. Chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/diethyl ether 1:1) and separation by HPLC, also on silica gel (eluent: hexane/diethyl ether 3:2,

pressure 30 bar) affords 108 mg (26%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D and 150 mg (36%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\beta$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D. These two silyl ethers are treated for 16 hours at -10<sup>0</sup> with a solution of 3 ml of 1% p-toluenesulfonic acid in methanol, and after chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/ethyl acetate 5:4), 90 mg(96%) of 13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

2.09 ppm (s) (CH<sub>3</sub>COO)

3.34 ppm (s) (CH<sub>3</sub>O)

4.47 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)

4.90-4.96 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)

and 100 mg (77%) of 13 $\beta$ -O-(4-O-acetyl- $\beta$ -L-oleandrosyl)-milbemycin D

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

2.08 ppm (s) (CH<sub>3</sub>COO)

3.31 ppm (s) (CH<sub>3</sub>O)

3.78 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)

4.28-4.32 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)

are obtained.

Example H4: Preparation of 13 $\beta$ -O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D

To a solution of 330 mg (0.48 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D in 6 ml of abs. THF are added under argon a solution

of 257 mg (0.673 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-3,4,6-tri-O-acetyl-D-thiogalactopyranose in 2 ml of abs. THF, and, at  $-20^{\circ}$ , 292 mg (1.34 mmol) of  $\text{AgClO}_4$  in 1 ml of THF. The mixture is heated in 15 minutes to room temperature and worked up by treating it with 1 ml of triethylamine, dissolving in diethyl ether and filtering. Chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/diethyl ether 8:7) affords 140 mg (30%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D.

The silyl ether protecting group is removed by treatment with a solution of 1% p-toluenesulfonic acid in methanol for 16 hours at  $-10^{\circ}$ . After chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/ethyl acetate 1:1) 95 mg (77%) of 13 $\beta$ -O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D is obtained (mixture of  $\alpha$  and  $\beta$  anomer; ratio about 9:1).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

1.99, 2.02, 2.07 ppm (3s) (3  $\text{CH}_3\text{COO}$ ).

3.61 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ).

4.92-4.98 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ).

Example H5: Preparation of 13 $\beta$ -O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D

The title compound (mixture of  $\alpha$  and  $\beta$  anomer; ratio about 3:1) is obtained analogously to Example H4 by reacting 330 mg (0.481 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D with 1-S-(2'-pyridyl)-3,4,6-tri-O-acetyl-D-thioglucofuranose, and removing the silyl ether protecting group. Yield 203 mg (50%).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

2.01, 2.05, 2.09 ppm (3s) (3  $\text{CH}_3\text{COO}$ ;  $\alpha$  anomer)

2.02, 2.03, 2.07 ppm (3s) (3  $\text{CH}_3\text{COO}$ ;  $\beta$  anomer)

3.46 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ;  $\beta$  anomer)

3.60 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ ;  $\alpha$  anomer)

4.50 ppm (d,  $J = 7$  Hz) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ;  $\beta$  anomer)

4.86-4.90 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ;  $\alpha$  anomer).

Example H6: Preparation of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}'$ -O-(L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl/ $\overline{4}'$ -  
milbemycin D

To a solution of 76 mg (0.11 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin D and 89 mg (0.20 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-4-(4'-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-L-thiooleandrose in 2 ml of abs. THF is added, under argon at  $-20^\circ$ , a solution of 130 mg (0.60 mmol) of  $\text{AgClO}_4$  in 1 ml of abs. THF. The mixture is stirred for 30 minutes at  $-20^\circ$  and then worked up after adding 1 ml of triethylamine in diethyl ether. Chromatographic purification on silica gel (eluent: hexane/diethyl ether 5:4) affords 18 mg (16%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O- $\overline{4}'$ -O-(4''-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl/ $\overline{4}'$ -milbemycin D and 15 mg (13%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O- $\overline{4}'$ -O-(4''-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\beta$ -L-oleandrosyl/ $\overline{4}'$ -milbemycin D as well as 40 mg (36%) of a mixture of these two compounds. To remove the acetoxy or silyl ether protecting groups the two compounds are treated for 3 days with a solution of 25% ammonia in methanol at  $4^\circ$  and then for 3 hours with 1 ml of a solution of 1% p-toluenesulfonic acid in MeOH, obtaining, after chromatographic purification on silica gel (eluent: dichloromethane/acetone 5:1) 5.0 mg

(33%) of  $13\beta\text{-O-}\overline{4'}\text{-O-(}\alpha\text{-L-oleandrosyl)-}\alpha\text{-L-oleandrosyl}\overline{1}\text{-milbemycin D}$

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.35, 3.41 ppm (2s) (2  $\text{OCH}_3$ )

3.46 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

4.88-4.92 ppm (m) ( $\text{C}_1\text{'H}$ )

5.32-5.40 ppm (m) ( $\text{C}_1\text{'H}$ )

and 5.2 mg (41%) of  $13\beta\text{-O-}\overline{4'}\text{-O-(}\alpha\text{-L-oleandrosyl)-}\beta\text{-L-oleandrosyl}\overline{1}\text{-milbemycin D}$

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.33, 3.38 ppm (2s) (2  $\text{OCH}_3$ )

3.79 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

4.28-4.36 ppm (m) ( $\text{C}_1\text{'H}$ )

5.34-5.42 ppm (m) ( $\text{C}_1\text{'H}$ ).

Example H7: Preparation of  $13\beta\text{-O-}\overline{4'}\text{-O-(}\alpha\text{-L-oleandrosyl)-}\alpha\text{-L-oleandrosyl}\overline{1}\text{-milbemycin A}_4$

The title compound (37 mg, 11%) is obtained analogously to Example H6 from 270 mg (0.40 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl- $13\beta$ -hydroxymilbemycin  $\text{A}_4$ .

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.35, 3.41 ppm (2s) (2  $\text{OCH}_3$ )

3.45 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

4.86-4.92

5.32-5.40 ppm (m) ( $\text{C}_1\text{'H}$ ).

Example H8: Preparation of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(4''-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\overline{4}$ '-O-(4''-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl- $\overline{4}$ '-O-milbemycin A<sub>4</sub>

A solution of 34 mg (0.034 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(4''-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl- $\overline{4}$ '-milbemycin A<sub>4</sub> (intermediate in Example H7) in 2 ml of abs. THF is treated at 0° with 60  $\mu$ l (0.06 mmol) of a 1 M solution of tetrabutylammonium fluoride (Bu<sub>4</sub>NF) and stirred for 16 hours at 0°. Chromatographic purification on silica gel (eluent: acetone/dichloromethane 3:17) affords 16 mg (53%) of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(4''-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)- $\alpha$ -L-oleandrosyl- $\overline{4}$ '-milbemycin A<sub>4</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; TMS):

2.09 ppm (s) (CH<sub>3</sub>COO)

3.35, 3.36 ppm (2s) (2 CH<sub>3</sub>O)

3.46 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)

4.86-4.94 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H)

5.34-5.40 ppm (m) (C<sub>1</sub>''H).

Example H9: Preparation of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(3'',4''-di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl- $\overline{4}$ '-milbemycin A<sub>4</sub>

To a solution of 200 mg (0.299 mmol) of 5-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxymilbemycin A<sub>4</sub> and 130 mg (0.359 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-4-(3',4'-di-O-methyl-2-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2,3-dideoxy-L-thiorhamnose in 5 ml of abs. THF is added under argon, at -20°, a solution of 93 mg (0.43 mmol) of AgClO<sub>4</sub> in 1 ml of abs. THF. The mixture is stirred for 30 minutes at -20° and then worked up with the addition of 1 ml of triethylamine in diethyl ether. Chromatographic



purification on silica gel (eluent: hexane/diethyl ether 2:1) affords 180 mg (65%) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(3'', 4''-di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl $\overline{1}$ '-milbemycin A<sub>4</sub>. 68 mg (0.074 mmol) of this silyl ether is treated for 3.5 hours at -10<sup>0</sup> with 1 ml of a 1% solution of p-toluenesulfonic acid in methanol, whereupon, after chromatographic purification on silica gel (eluent: dichloromethane/acetone 9:1) 57 mg (96%) of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-(3'',4''-di-O-methyl-2''-deoxy- $\alpha$ -L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl $\overline{1}$ '-milbemycin A<sub>4</sub> is obtained (mixture of 1' $\alpha$  and 1' $\beta$  anomer; ratio about 2:1).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>: TMS):

3.42, 3.44, 3.54, 3.55 ppm (4s) (OCH<sub>3</sub>)

3.80 ppm (d, J = 10 Hz) (C<sub>13</sub>H)

4.28-4.36 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H;  $\beta$  anomer)

4.74-4.80 ppm (m) (C<sub>1</sub>'H;  $\alpha$  anomer)

5.30-5.40 ppm (m) (C<sub>1</sub>''H).

Example H 10: Preparation of 13 $\beta$ -O- $\overline{4}$ '-O-( $\alpha$ -L-oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl $\overline{1}$ '-milbemycin D

246 mg (0.358 mmol) of 5-O-tert.-butyldimethylsilyl-13 $\beta$ -hydroxy-milbemycin D is reacted with 167 mg (0.406 mmol) of 1-S-(2'-pyridyl)-4-(4'-O-acetyl- $\alpha$ -L-oleandrosyl)-L-thio-2,3-dideoxy-rhamnose and 114 mg (0.527 mmol) of AgClO<sub>4</sub>, analogously to Example H6. 54 mg (18%) of the title compound is obtained (mixture of 1' $\alpha$  and 1' $\beta$  anomer; ratio about 1:1).

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ; TMS):

3.38, 3.40 ppm (2s) ( $\text{OCH}_3$ )

3.80 ppm (d,  $J = 10$  Hz) ( $\text{C}_{13}\text{H}$ )

4.28-4.36 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ;  $\beta$  anomer)

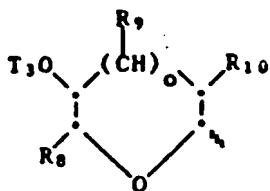
4.76-4.80 ppm (m) ( $\text{C}_1'\text{H}$ ;  $\alpha$  anomer)

5.30-5.40 ppm (m) ( $\text{C}_1''\text{H}$ ).

The following representatives of formula I are prepared analogously to the above-described procedures.

Table 1

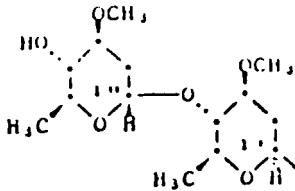
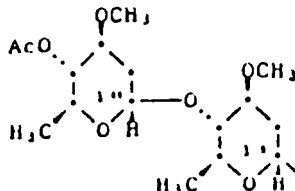
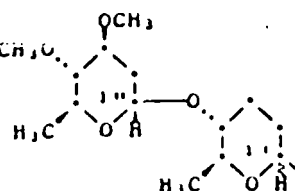
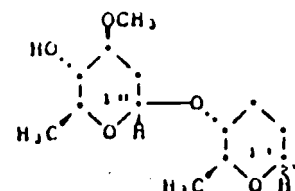
Typical representatives of compounds of formula I, wherein R stands for the group



R<sub>1</sub> stands for hydrogen and R<sub>2</sub> has the meaning indicated above (Ac stands for acetyl in all examples)

Cpd. No.	R	R <sub>2</sub>	Preparatory example
1.1 1.2 1.3 1.4		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H1
1.5 1.6 1.7 1.8		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H2
1.9 1.10 1.11 1.12		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H3
1.13 1.14 1.15 1.16		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H4
1.17 1.18 1.19 1.20		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H5

Table 1 (continued)

Cond. No.	R	R <sub>2</sub>	Preparatory example
1.21 1.22 1.23 1.24		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H7 H
1.25 1.26 1.27 1.28		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H8
1.29 1.30 1.31 1.32		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H9
1.33 1.34 1.35 1.36		CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> sec.-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H10

### Formulation examples for the active substance of formula I

(% = percent by weight)

<u>Wettable powder</u>	a)	b)	c)
Active compound of the Tables	25 %	50 %	75 %
Na lignin sulfonate	5 %	5 %	-
Na lauryl sulfate	3 %	-	5 %
Na diisobutyl-naphthalene sulfonate	-	6 %	10 %
Octylphenol polyethylene glycol ether (7-8 moles of ethylene oxide)	-	2 %	-
Highly dispersed silica	5 %	10 %	10 %
Kaolin	62 %	27 %	-

The active substance is thoroughly mixed with the additives and thoroughly ground in a suitable mill, affording wettable powders which can be diluted with water to form suspensions of any desired concentration.

### Emulsifiable concentrate

Active substance of the Tables	10 %
Octylphenol polyethylene glycol ether (4-5 moles of ethylene oxide)	3 %
Ca dodecylbenzene sulfonate	3 %
Castor oil polyglycol ether (36 moles of ethylene oxide)	4 %
Cyclohexanone	30 %
Xylene mixture	50 %

Emulsions of any desired concentration can be prepared from this concentrate by dilution with water.

<u>Dusts</u>	a)	b)
Active substance of the Tables	5 %	8 %
Talc	95 %	-
Kaolin	-	92 %

Dusts ready for use are obtained by mixing the active substance with the excipient and grinding in a suitable mill.

#### Extruder granulate

Active substance of the Tables	10 %
Na lignin sulfonate	2 %
Carboxymethylcellulose	1 %
Kaolin	87 %

The active substance is thoroughly mixed with the additives, ground and wetted with water. This mixture is extruded and then dried in a stream of air.

#### Tablets or boluses

I	An active substance of the Tables	33.0 %
	Methylcellulose	0.80 %
	Highly dispersed silica	0.80 %
	Corn starch	8.40 %

The methylcellulose is stirred in water and allowed to swell; the silica is stirred in and suspended homogeneously. The active substance and corn starch are mixed. The aqueous suspension is worked into this mixture and kneaded to a paste. This material is granulated through a 12 M sieve and then dried.

II	Crystalline lactose	22.50 %
	Corn starch	17.00 %
	Microcrystalline cellulose	16.50 %
	Magnesium stearate	1.00 %

All 4 adjuvants are thoroughly mixed.

Phases I and II are mixed and compressed to tablets or boluses.

If the compounds of formula I or corresponding compositions are used for controlling endoparasitic nematodes, cestodes or trematodes in useful and domestic animals such as cattle, sheep, goats, cats and dogs, they may be administered to the animals both in a single dose and in repeated doses, with the individual doses preferably ranging between 0.1 and 10 mg per kg of body weight, depending on the animal species. In some cases a better action is achieved by prolonged administration, or lower total doses will be sufficient. The active substance or the compositions containing them can also be added to the feed or drinks. The ready-for-use feed contains the active-substance combination preferably in a concentration of from 0.005 to 0.1% by weight. The compositions can also be administered to the animals orally in the form of solutions, emulsions, suspensions, powders, tablets, boluses or capsules. If permitted by the physical and toxicological properties of solutions or emulsions, the compounds of formula I or the compositions containing them can also be administered to the animals e.g. by subcutaneous injection, intraruminally, or applied to the bodies of the animals by the pour-on method. Furthermore, administration of the active substance to the animals by means of salt licks or molasses blocks is also possible.

## BIOLOGICAL EXAMPLES

### B-1. Insecticidal stomach poison action against *Spodoptera littoralis*

Potted cotton plants in the 5-leaf stage are sprayed with an acetonic/ aqueous test solution containing 3, 12.5 or 50 ppm of the test compound.

After the coating has dried, the plants are populated with about 30 larvae ( $L_1$  stage) of *Spodoptera littoralis*. Two plants are used per test compound and test species. The test is carried out at about 24°C and 60% relative humidity. Evaluations and intermediate evaluations of moribund animals, growth and larvae and feeding damage are made after 24 hours, 48 hours and 72 hours.

With the compounds of formula I, e.g. compounds No. 1.30 and 1.35, complete kill was achieved after 24 hours even at an active substance concentration of 3 ppm.

### B-2. Action against plant-damaging acarids

#### OP-sensitive *Tetranychus urticae*

Sixteen hours before the test the primary leaves of bean plants (*Phaseolus vulgaris*) are infected with a piece of leaf infested with *T. urticae* and originating from a mass culture. Upon removal of the piece of leaf, the plants thus infected with all stages of the mites are sprayed to the drip point with a test solution containing 0.8 ppm of the test compound. The temperature in the greenhouse compartment is about 25°C.

The percentage of mobile stages (adults and nymphs) and of eggs present is evaluated under a binocular microscope after 7 days.



Compounds of formula I of the Tables, such as compounds No. 1.3 and 1.11, achieved complete kill already at an active-substance concentration of 0.8 ppm.

#### B-3. Action against $L_1$ larvae of *Lucilia sericata*

One ml of an aqueous suspension of the active substance to be tested is mixed with 3 ml of a special larval culture medium at about 50°C, so that a homogeneous composition containing either 100 ppm or 10 ppm of active substance is obtained. About 30 *Lucilia* larvae ( $L_1$ ) are placed in each active-substance-containing test tube. The mortality is determined after 4 days. At 100 ppm all compounds of formula I from the preparatory examples achieved a 100% effect. At a dilution of 10 ppm the compounds No. 1.3, 1.7, 1.11, 1.15, 1.19, 1.23, 1.30 and 1.35 still exerted a complete effect.

#### B-4. Acaricidal action against *Boophilus microplus* (Biarra strain)

Adhesive tape is vertically fastened to a PVC plate in such a way that 10 female *Boophilus microplus* ticks (Biarra strain) fully replete with blood can be attached next to one another with their backs in one row. Each tick is injected from an injection needle with 1  $\mu$ l of a liquid containing a 1:1 mixture of polyethylene glycol and acetone in which a specific amount of active substance -- either 1, 0.5 or 0.1  $\mu$ l  $\overline{\text{sic}}$  per tick -- is dissolved. Control animals receive an injection containing no active substance. After the treatment, the animals are kept under normal conditions in an insectarium at about 28°C and 80% relative humidity, until oviposition has occurred and the larvae have hatched from the eggs of the control animals.

The activity of a test substance is determined by the  $IR_{90}$ , i.e. the effective

dose is determined at which 9 of 10 female ticks (= 90%) even after 30 days lay eggs that are unable to hatch.

The compounds of formula I of the Tables, such as compounds No. 1.3, 1.23, 1.26, 1.30 and 1.35 achieve an  $IR_{90}$  of 0.5  $\mu$ g.

B-5. Test with sheep infected with nematodes (*Haemonchus concortus* and *Trichostrongylus colubriformis*)

The active substance formulated as a suspension is administered with a stomach tube or by intraruminal injection to sheep which had been artificially infected with *Haemonchus concortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. One to three animals are used for each dose. Each sheep is treated only once with a single dose, which is either 0.5 mg or 0.2 mg per kg of body weight. The evaluation is done by comparing the number of worm eggs excreted in the feces of the sheep before and after treatment.

Untreated sheep infected simultaneously and in the same manner serve as controls. Compared with untreated but infected control groups, sheep which had been treated with one of the compounds of formula I at a dose of 1 mg/kg showed no nematode infestation (= complete reduction of worm eggs in the feces). The compounds No. 1.22, 1.23 and 1.35 exerted full action even at a dose of 0.2 mg.

B-6. Contact action against *Aphis craccivora*

Pea seedlings infected with all development stages of the aphid are sprayed with an active-substance-containing solution prepared from an emulsion

concentrate and containing either 50 ppm, 25 ppm or 12.5 ppm of active substance. After 3 days an evaluation is made to determine whether more than 80% of the aphids are dead or have dropped off. A composition is rated as effective only at this level of activity.

The compounds of formula I of the Tables, such as compounds No. 1.3, 1.11 and 1.35, achieved complete kill (= 100%) at a concentration of 12.5 ppm.

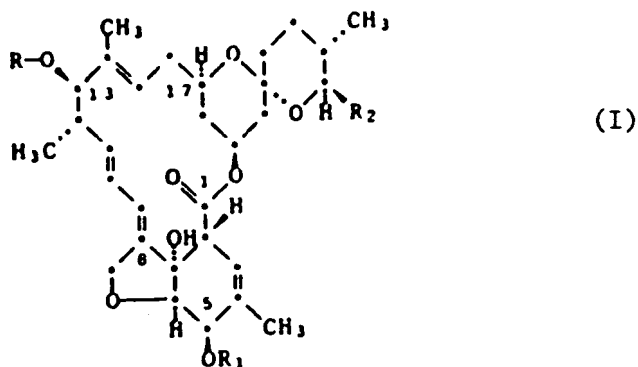
#### B-7. Larvicidal action against *Aedes aegypti*

A 0.1% solution of active substance in acetone is pipetted onto the surface of 150 ml of water in a container, in amounts such as to obtain concentrations of either 10 ppm, 3.3 ppm or 1.6 ppm. After evaporation of the acetone about 30-40 three-day-old *Aedes* larvae are placed in the container. The mortality is determined after 1, 2 and 5 days,

In this test the compounds of formula I of the Tables, such as compounds No. 1.7, 1.11, 1.23, 1.30 and 1.35, achieved complete kill of all larvae at a concentration of 1.6 ppm even after one day.

# CLAIMS

1. Compounds of formula I



wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;

$R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and

R stands for a sugar residue.

2. Compounds of formula I according to Claim 1, wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;

$R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and

R stands for a carbohydrate group  $-A-(B)_m-(C)_n$ ,

wherein A represents a carbohydrate residue that is bonded in the 1'-position and which may be bonded glycosidically to a second or third carbohydrate molecule B and/or C of any structure, with m and n independently of one another representing 0 or 1.

3. Compounds of formula I according to Claim 2, wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and R stands for a mono-, di- or trisaccharide

selected from the group comprising glucose, fructose, altrose, mannose, sorbose, gulose, idose, allose, galactose, ribose, rhamnose, arabinose, xylose, lyxose, erythrose, threose, thamnose, oleandrose, altrose, talose, methylglucose, trimethylglucose, tetraacetylglucose, 2-deoxy-glucose, 2-deoxy-galactose, 2-deoxy-rhamnose, 2-deoxy-ribose, lactose, maltose, cellobiose, melibiose, gentiobiose and oleandryl-oleandrose.

4. Compounds of formula I according to one of Claims 1 to 3, wherein  $R_1$  represents hydrogen,  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec-butyl, and R stands for a sugar residue.

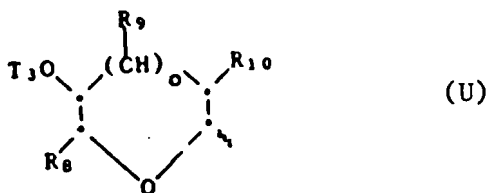
5. Compounds of formula I according to one of Claims 1 to 3, wherein R stands for one of the indicated sugar residues;  $R_1$  represents the group  $-\text{Si}(\text{R}_5)(\text{R}_6)(\text{R}_7)$  wherein  $\text{R}_5$ ,  $\text{R}_6$  and  $\text{R}_7$  independently of one another stand for  $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alkyl, benzyl or phenyl; and  $\text{R}_2$  represents methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

6. Compounds of formula I according to Claim 5, wherein R stands for a sugar residue;  $\text{R}_1$  represents trimethylsilyl, tris(tert.-butyl)-silyl, diphenyl-tert.-butylsilyl, bis(isopropyl)methylsilyl, triphenylsilyl, dimethyl-(2,3-dimethyl-2-butyl)silyl or tert.-butyldimethylsilyl; and  $\text{R}_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

7. Compounds of formula I according to one of Claims 1 to 3, wherein  $\text{R}_1$  stands for an acyl group,  $\text{R}_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl, and R represents one of the indicated sugar residues.

8. Compounds of formula I according to Claim 7, wherein  $R_1$  stands for acetyl or benzoyl,  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl, and R represents one of the indicated sugar residues.

9. Compounds of formula I according to Claim 1, wherein R stands for the sugar residue of formula U



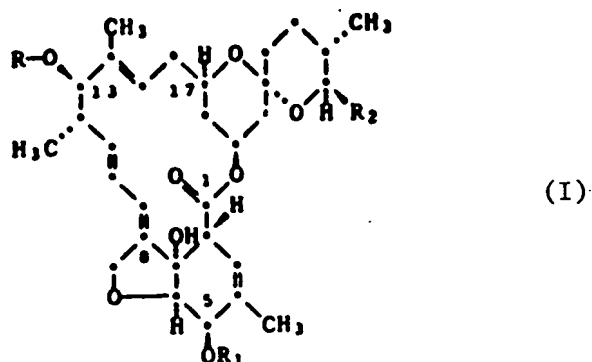
including the position isomers thereof, wherein o stands for 0 or 1;  $R_8$  is hydrogen, methyl or  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{T}_1$ ;  $R_9$  and  $R_{10}$  independently of one another stand for hydrogen or  $\text{OT}_2$ , or a double bond is present in place of  $R_9$  and  $R_{10}$ ;  $\text{T}_1$ ,  $\text{T}_2$  and  $\text{T}_3$  independently of one another represent hydrogen, methyl, benzyl, an unsubstituted or halogen-substituted  $\text{C}_1-\text{C}_6$ -aliphatic acyl group, a benzoyl group or a  $\text{C}_1-\text{C}_6$ -alkoxycarbonyl group, or where  $\text{T}_1$  and  $\text{T}_2$  together with the carbon atom of the carbonyl group of an aliphatic or aromatic aldehyde or ketone form a cyclic acetal containing not more than 13 carbon atoms;  $R_1$  is hydrogen or a protecting group; and  $R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl.

10. Compounds of formula I according to Claim 9, wherein  $\text{T}_3$  stands for a sugar residue of formula U and the other substitutes are as defined in Claim 9.

11. Compounds of formula I according to Claim 9, wherein U stands for a monosaccharide residue and the other substituents are as defined in Claim 9.

12. Compounds of formula I according to Claim 9, wherein U represents a 2-deoxy sugar residue and the other substituents are as defined in Claim 9.
13. Compounds of formula I according to Claim 9, wherein U stands for a disaccharide residue and the rest of the substituents are as defined in Claim 9.
14. A compound of formula I according to one of Claims 1 to 3, selected from the group comprising
- 13 $\beta$ -O-(3,4-Di-O-acetyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-L-rhamnosyl)-milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O-(4-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-galactopyranosyl)-milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy-D-glucopyranosyl)-milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O- $\underline{\overline{4}}$ '-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl $\overline{1}$ -milbemycin D;
- 13 $\beta$ -O- $\underline{\overline{4}}$ '-O-(L-Oleandrosyl)-L-oleandrosyl $\overline{1}$ -milbemycin A<sub>4</sub>;
- 13 $\beta$ -O- $\underline{\overline{4}}$ '-O-(4''-O-Acetyl-L-oleandrosyl)-L-oleandrosyl $\overline{1}$ -milbemycin A<sub>4</sub>;
- 13 $\beta$ -O- $\underline{\overline{4}}$ '-O-(L-Oleandrosyl)-2,3-dideoxy-L-rhamnosyl $\overline{1}$ -milbemycin D; and
- 13 $\beta$ -O- $\underline{\overline{4}}$ '-O-(3'', 4''-Di-O-methyl-2-deoxy-L-rhamnosyl)-2',3'-dideoxy-L-rhamnosyl $\overline{1}$ -milbemycin A<sub>4</sub>.

15. Process for the preparation of compounds of formula I



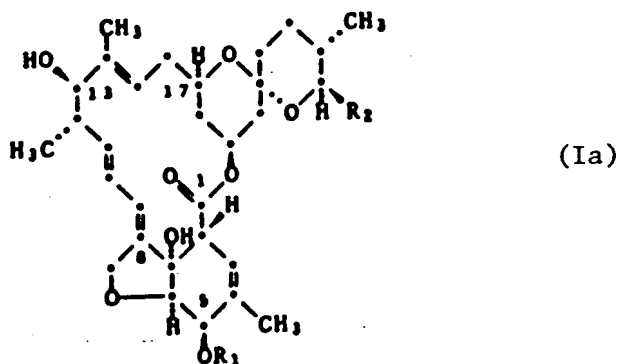
wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;

$R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and

R stands for a sugar residue,

characterized by reacting a compound of formula Ia



wherein

$R_1$  represents a protecting group; and

$R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl,

with a reactive sugar derivative.

16. Process according to Claim 15 for the preparation of milbemycin derivatives of formula I wherein R and  $R_1$  have the meaning indicated in Claim 1



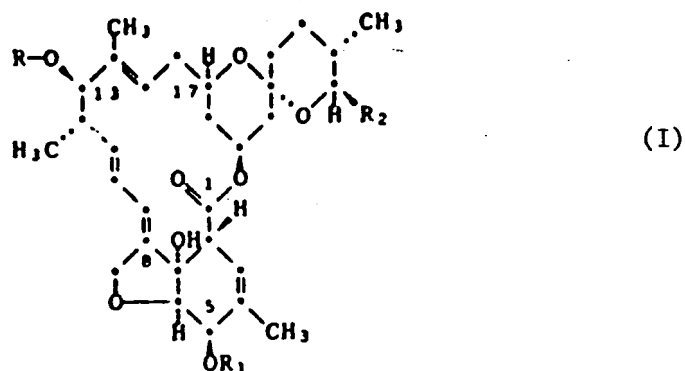
and R represents the group  $-A-(B)_m-(C)_n$ , wherein A is a carbohydrate residue bonded in the 1'-position and which carries in the 2'-position a readily removable group bonded through oxygen or a hydroxy group and which may be bonded glycosidically to a second or third carbohydrate molecule B and/or C of any structure, with m and n independently of one another representing 0 or 1, said process being characterized in the narrower sense by reacting 13 $\beta$ -hydroxymilbemycin of formula I

- a) with the carbohydrate A or  $A-(B)_m-(C)_n$  to be introduced, wherein A, B, C, m and n have the meaning indicated for formula I and wherein all OH groups are protected with the exception of the chlorine- or bromine-substituted anomeric 1-OH group, in the presence of a silver salt or mercury salt as condensing agent, with the exclusion of light, in the temperature range of from  $-30^{\circ}\text{C}$  to  $+60^{\circ}\text{C}$ , preferably from  $-5^{\circ}\text{C}$  to  $+30^{\circ}\text{C}$ ; or
- b) with the carbohydrate A or  $A-(B)_m-(C)_n$  to be introduced, wherein all OH groups are protected with the exception of the anomeric OH group substituted in the 1-position by 5-(2-pyridyl), in the presence of  $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$  or  $\text{AgClO}_4$  as condensing agent, at  $-30^{\circ}$  to room temperature, in tetrahydrofuran (THF) as solvent, and if desired, with mild saponification of the hydroxyl-protecting groups with 25% ammonia in methanol at  $0^{\circ}$  to room temperature, preferably at  $0-5^{\circ}$ . After the glycosidation reaction the silyl protecting group is again conveniently removed by treating the compound of formula I with a dilute acid such as 1% p-toluenesulfonic acid in methanol, with an aqueous HF solution in acetonitrile in the temperature range of from  $-30^{\circ}$  to  $0^{\circ}\text{C}$ , preferably at  $-10^{\circ}$ , or with pyridinium fluoride

in pyridine,

and, if desired, by mild saponification of the hydroxy-protecting groups.

17. Pest control composition against ectoparasites, endoparasites and insects, which, in addition to conventional excipients and/or dispersing agents, contains at least one compound of formula I



wherein

$R_1$  represents hydrogen or a protecting group;

$R_2$  stands for methyl, ethyl, isopropyl or sec.-butyl; and

R stands for a sugar residue.

18. Composition according to Claim 17, characterized in that it contains, as compound of formula I, at least one compound according to Claims 2 to 11.

19. Use of compounds of formula I according to one of Claims 1 to 14 for controlling ectoparasites, endoparasites and insects in animals and plants.

20. Use according to Claim 19 for controlling endoparasites in warm-blooded animals.

21. Use according to Claim 20, characterized in that the endoparasites are nematodes.

22. Process for controlling pests in animals and plants, characterized by applying a compound of formula I according to one of Claims 1 to 14 to or in the animal, to the plants or to their surroundings.

PERTINENT DOCUMENTS			
Category	Characterization of documents with indication of the relevant parts, to the extent necessary	Relates to Claim(s)	Classification of Application (Int.Cl.4)
Y	EP-A-O 007 812 (MERCK & CO.) * Pages 53, 54 *	1, 17	C 07 D 493/22 A 01 N 43/90 / (C 07 D 493/22 C 07 D 313:00 C 07 D 311:00 C 07 D 311:00 C 07 D 307:00)
Y, P	EP-A-O 180 539 (CIBA-GEIGY) * Pages 45-52 *	1, 17	
Y, P	EP-A-O 184 173 (CIBA-GEIGY) * Pages 45-57 *	1, 17	
Y, P	EP-A-O 189 159 (CIBA-GEIGY) * Pages 50-56 *	1, 17	
The foregoing search report was drawn up for all patent claims.			AREAS SEARCHED (Int. Cl. 4)
			C 07 D 493/00 A 01 N 43/00
Site of search THE HAGUE		Closing date of search May 18, 1987	Checked by VERHULST W.

[continued]

# CATEGORY OF DOCUMENTS CITED

- |  |  |
|--|--|
| X : Of particular importance considered by itself  | T : Theories or principles on which invention is based   |
| Y : Of particular importance in connection with another publication of the same category | E : Older patent document, but one which was not published until or after the application date |
| A : Technological background   | D : Document cited in application  |
| O : Unwritten disclosure   | L : Document cited for other reasons   |
| P : Intermediate literature  | .....  |
|  | & : Member of the same patent family; concurring document                                      |

EPO FORM1503 03 62